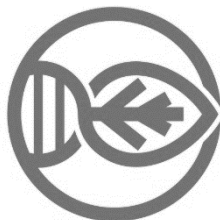


# I OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA NAUKOWA „BIOTECHNOLOGIA - ENERGIA JUTRA”

## Abstrakty



WYDZIAŁ  
BIOTECHNOLOGII  
I NAUK O ŚRODOWISKU | **KUL**



Lublin 2017

I OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA NAUKOWA  
„BIOTECHNOLOGIA - ENERGIA JUTRA”  
19 – 20 października 2017 r.

**Organizatorzy**

Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Instytut Biotechnologii  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II  
Koło Naukowe Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego  
Jana Pawła II

**Redakcja:**

Anna Pytlak  
Adam Kubaczyński

ISBN 978-83-948570-0-4

**Wydawca:**

Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II  
ul. Konstantynów 1I; 20-708 Lublin

**Wydruk:**

Wydawnictwo KUL, ul. Konstantynów 1H; 20-708 Lublin

### **Komitet Naukowy:**

Przewodnicząca:

prof. dr hab. Zofia Stępniewska (KUL)

Członkowie:

prof. dr hab. Jan Gliński (PAN)

prof. dr hab. Wanda Małek (UMCS)

prof. dr hab. Witold Stępniewski (PL)

prof. dr hab. Ryszard Szyszka (KUL)

prof. dr hab. Adam Jaworski (UŁ)

prof. dr hab. Jerzy Tys (IA PAN)

prof. dr hab. n. farm. Monika Waksmundzka-Hajnos (UM)

dr hab. Ewa Skórzyńska-Polit (prof. KUL)

dr hab. Magdalena Frąc (prof. IAPAN)

dr hab. Danuta Urban (prof. UP)

dr Artur Banach (KUL)

dr hab. Adam Bownik (UP)

dr Dariusz Kasprzycki (UJ)

dr Agnieszka Kuźniar (KUL)

dr Anna Pytlak (KUL)

dr Anna Szafranek-Nakonieczna (KUL)

dr Agnieszka Wolińska (KUL)

mgr Weronika Goraj (KUL)

### **Komitet Organizacyjny:**

Przewodnicząca:

dr Anna Pytlak

Członkowie:

mgr Adam Kubaczyński

mgr Natalia Łopacka

Kamil Chudzik

Paulina Onopiuk

Kinga Proc

**Patronaty honorowe:**

JM ks. prof. dr hab. Antonii Dębiński  
Rektor Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II

JM prof. dr hab. n. med. Andrzej Drop  
Rektor Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

JM prof. dr hab. Stanisław Michałowski  
Rektor Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

JM prof. dr hab. Zygmunt Litwińczuk  
Rektor Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

prof. dr hab. Wiesław Oleszek  
Dyrektor Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa

Polska Akademia Nauk o/w Lublinie

### **Referaty plenarne:**

**PROF. DR HAB. ANDRZEJ DERDZIUK OFMCAF.**

Instytut Teologii Moralnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

**PROF. DR HAB. RYSZARD SZYSZKA**

Dziekan Wydziału Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Kierownik Katedry Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

**PROF. DR HAB ADAM JAWORSKI**

Instytut Mikrobiologii Uniwersytetu Łódzkiego  
Instytut Nauk o Zdrowiu, Społecznej Akademia Nauk

**PROF. DR HAB. N. FARM. MONIKA WAKSMUNDZKA-HAJNOS**

Katedra Chemii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

**DR HAB. MAŁGORZATA PLESZCZYŃSKA**

Zakład Mikrobiologii Przemysłowej, Uniwersytet Marii Skłodowskiej-Curie

**DR AGATA PRZEKORA**

Katedra i Zakład Biochemii i Biotechnologii,  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

**DR DARIUSZ KASPRZYCKI**

Katedra Prawa Własności Intelektualnej, Uniwersytet Jagielloński

**DR HAB. ADAM BOWNIK**

Katedra Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**PROF. DR HAB. ZOFIA STĘPNIEWSKA**

Kierownik Katedry Biochemii i Chemii Środowiska,  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

**DR HAB. PROF. UMCS ANNA JAROSZ-WILKOŁAZKA**

Zakład Biochemii, Uniwersytet Marii Skłodowskiej-Curie

## Spis treści

### *Referaty - Biotechnologia w ochronie zdrowia*

Etyczne aspekty biotechnologii .....	10
Kinaza białkowa CK2 jako cel terapeutyczny .....	11
Mikrobiom przewodu pokarmowego (microbiota GI) człowieka w zdrowiu i w chorobie .....	13
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) z biodetekcją jako metoda określania aktywności biologicznej substancji naturalnych .....	14
Enzymy w higienie jamy ustnej .....	16
Inżynieria tkankowa – nowoczesna strategia regeneracji tkanki kostnej .....	17
Znaczenie zwierząt bezkręgowych w biotechnologii .....	18
Działanie skojarzone nowych pochodnych kwasu cyjankowego z doksorubicyną - perspektywa rozwoju bezpiecznej i skutecznej chemioterapii .....	19
Zastosowanie kationowych pochodnych poliizoprenoidów jako nośników kwasów nukleinowych .....	20

### *Referaty - Biotechnologia przemysłowa i środowiskowa*

Interpretacja przesłanek patentowalności w kontekście wynalazków biotechnologicznych .....	23
Biotechnologiczny potencjał w tworzeniu niskoemisyjnych źródeł energii .....	25
Od grzybni do kłębka - synteza barwników tekstylnych .....	26
Przemiany mleczanu w beztlenowym rozkładzie materii organicznej .....	27
Badanie śladu węglowego w produkcji żywności .....	29
Mikrobiologiczna produkcja wodoru i metanu .....	30
Metody obróbki celulozy ze słomy konopnej ( <i>Cannabis Sativa L.</i> ) .....	31

### *Postery*

Niskocząsteczkowe inhibitory kinazy białkowej CK2 osłabiają wirulencję <i>Candida albicans</i> .....	34
TLC-kontaktowa bioautografia do oceny przeciwpłatkowej aktywności naturalnie występujących lotnych składników .....	35
Metanogeneza naturalna lignitów występujących w złożach kopalni „Bełchatów” i „Turów” .....	36
Biologiczna stymulacja metanogenezy w polskich węglach brunatnych .....	37

Złoża węgla jako środowisko życia mikroorganizmów .....	38
Analiza metagenomiczna społeczności metanogenicznej wyizolowanej z osadu dennego zbiornika zapadliskowego .....	39
Potencjał biotechnologiczny społeczności metanotrofów do produkcji poli(3-hydroksymaślanu) .....	40
Potencjał biofiltracyjny utworów towarzyszących pokładom węgla brunatnego .....	41
Synteza osmolitów przez społeczność metanotroficzną .....	42
Udział mikroorganizmów towarzyszących <i>Azolla filiculoides</i> L. w usuwaniu jonów ołowiu (II) z wód .....	43
Tworzenie potencjałów elektrycznych w glebach poddanych trwałemu zalaniu .....	44
Struktura mikroorganizmów zasiedlających czarną ziemię zanieczyszczoną substancjami ropopochodnymi .....	45
Aktywność dehydrogenazowa oraz liczebności bakterii kopio- i oligotroficznych wskaźnikiem wrażliwości na rolnicze użytkowanie gleb* .....	46
Biomasa mikroorganizmów i zawartość DNA w wybranych glebach płowych Lubelszczyzny .....	47
Potencjał metanogeniczny mikroorganizmów zasiedlających osady organiczne .....	48
Charakterystyka metaboliczna konsorcjum metanotroficznego wyizolowanego z otoczenia pokładów w Kopalni Soli „Wieliczka” .....	49
Ocena aktywności enzymatycznej w monitoringu gleb uprawnych w Polsce .....	50
Analiza profilu metabolicznego mikroorganizmów zasiedlających liść <i>Paulownia</i> spp. .....	51
Genotypowanie szczepów <i>Azotobacter</i> sp. wyizolowanych z różnych gleb Polski .....	52
Porównanie metabolicznej różnorodności drobnoustrojów w glebie w różnych systemach gospodarowania .....	53
Mikrobiom gleb skażonych ropą .....	54
Dobór warunków hodowli dla <i>Rudbeckia laciniata</i> L. w kulturach <i>in vitro</i> .....	55
Określenie zmian w jakości gleb i różnorodności drobnoustrojów glebowych jako efekt oddziaływania różnych systemów uprawy roli .....	56
Bakterie metanotroficzne – wybrane korzyści w biotechnologii środowiskowej .....	57
Rolnicze wykorzystanie pofermentu z biogazowni odpadów cukrowniczych .....	58
Charakterystyka fenotypowa i genotypowa mikrosymbiontów Złotokapu zwyczajnego ( <i>Laburnum anagyroides</i> Medik.) .....	59

Selekcja szczepów grzybów drożdżopodobnych z rodzaju <i>Aureobasidium</i> do produkcji ksylitolu z D-ksylozy .....	60
Charakterystyka bakterii <i>Xenorhabdus</i> symbiotycznie związanych z nicieniami <i>Steinernema poinari</i> .....	61
Ocena różnorodności genetycznej grzybów oraz profilu metabolicznego w długoletniej monokulturze kukurydzy z zastosowaniem różnych technik uprawy gleby .....	62
Ocena różnorodności genetycznej i funkcjonalnej bakterii w glebie długoletnio skażonej ropą naftową.....	63
Zastosowanie techniki adsorpcji azotu w badaniach parametrów powierzchniowych frakcji glebowych substancji humusowych.....	64
Sprzężona analiza termogravimetryczna jako nowoczesne narzędzie oceniające termiczną stabilność struktury glebowych kwasów huminowych i fulwowych .....	65
Ocena zdolności tworzenia brodawek korzeniowych przez mikrosymbionty moszerek południowych - test roślinny .....	66
Wrażliwość <i>Geotrichum capitatum</i> na działanie wybranych antrachinonów i flawonoidów .....	67
IWR1- nowym substratem kinazy białkowej CK2.....	68
Zastosowanie nanocząsteczek w terapii przeciwnowotworowej.....	69
Wpływ warunków natlenienia na wzrost i aktywność metaboliczną <i>Photorhabdus temperata</i> .....	70
Wpływ wilgotności podłoża torfowego oraz czasowego przesuszenia na wydajność procesu biofiltracji metanu.....	71
Alternatywne metody oceny bezpieczeństwa surowców kosmetycznych test mikrojądrowy..... <b>Błąd! Nie zdefiniowano zakładki.</b>	
Charakterystyka biopreparatu <i>metaferm</i> i ocena wpływu jego stosowania na produkcję biogazu.....	72
Egzopolimery a aktywność ryzosferowych szczepów <i>Trichoderma</i> i <i>Fusarium</i> .....	75
Aktywność metaboliczna psychrotroficznych szczepów <i>Mortierella</i> i <i>Bacillus</i> - potencjalnych biostymulatorów roślin .....	76



REFERATY

*Biotechnologia w ochronie zdrowia*

## **Etyczne aspekty biotechnologii**

Prof. dr hab Andrzej Derdziuk

Instytut Teologii Moralnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Odkrycia naukowe i rozwój technologii dodają człowiekowi wiedzy i udzielają władzy nad naturą, którą ludzkość poznaje i przetwarza. Dlatego potrzebny jest namysł nad konsekwencjami badań naukowych, gdyż człowiek zyskuje nowe możliwości, które różnie może wykorzystywać i doświadczać, jak zmienia się jego pozycja wśród innych istot. W ramach etycznych aspektów biotechnologii przedmiotem refleksji jest zakres i konsekwencje ingerencji człowieka w świat przyrody ożywionej, dokonujące się dzięki postępowi wiedzy i rozwojowi technicznych narzędzi regulowania i modyfikowania naturalnych procesów życiowych.

Podmiotowy wymiar refleksji etycznej nad postawą badacza wskazuje na konieczność uświadomienia sobie roli i miejsca człowieka w świecie, który nie jest absolutnym władcą stworzeń, ale zarazem odkrywa swoje szczególne i wyjątkowe miejsce wśród innych istot, dzięki posiadanej świadomości i wolności. Respektowanie praw natury dotyczy też samego człowieka, który nie może zapomnieć, jak istotne jest kierowanie się racjonalnym namysłem, uwzględniającym nie tylko doświadczenia zdobyte w przeszłości, ale też otwarcie się na przewidywanie konsekwencji dokonanych odkryć i podejmowanych działań. Nagromadzenie wiedzy nie jest równoznaczne ze wzrostem mądrości roztropnie wskazującym, jak właściwie wykorzystać zdobycze nauki i techniki.

Wśród różnych stanowisk określających relację etyki do nauki wyróżnia się twierdzenia ludzi uważających ograniczenia etyczne za uciążliwy i szkodliwy hamulec dla rozwoju badań naukowych oraz przeciwstawne im poglądy osób, które w respektowaniu ładu etycznego widzą właściwy kierunek rozwoju badań służących prawdziwemu dobru ludzkości. Wobec uświadomionej potęgi możliwości technicznych współczesnej nauki szkodliwą jest postawa obojętności unikająca podejmowania namysłu nad zasadami i konsekwencjami prowadzenia badań z zakresu biotechnologii. Przyjmując pogląd, że nie wszystko, co technicznie możliwe, jest etycznie dopuszczalne, można jednak w pełni twórczej wolności rozwijać naukę osiągającą optimum swoich możliwości.

## **Ethical aspects of biotechnology**

The subjective dimension of ethical reflection on the researcher's attitude indicates the need to become aware of the role and place of man in a world, in which he is not the absolute ruler of creatures, but at the same time he discovers his special and unique place among other beings through his consciousness and freedom. Respecting the laws of nature also applies to the person who cannot forget the importance of being guided by rational thought, taking into account not only past experiences, but also openly anticipating the consequences of the discoveries and actions undertaken. The accumulation of knowledge is not tantamount to the increase of wisdom, prudently indicating how to properly use the gains of science and technology.

Among the various positions that characterize the ethics of science are the claims made by people who consider ethical constraints to be burdensome and damaging to the development of scientific research, and the opposing views of those who respect ethical principles as the right direction for the development of research for the welfare of humanity. In the face of the perceived power of modern technology, it is detrimental nature to avoid thinking about the principles and consequences of conducting research in the field of biotechnology. Assuming that not everything technically possible is ethically acceptable, creative freedom can be developed enabling the science to reach its optimum.

## Kinaza białkowa CK2 jako cel terapeutyczny

Ryszard Szyszka

Katedra Biologii Molekularnej, Instytut Biotechnologii,  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin

Kinazy białkowe należą do enzymów znajdujących się w centrum zainteresowania w wielu laboratoriach akademickich i przemysłowych. Wprowadzenie leków o nazwach Gefitinib, Erlotinib i Gleevec pomogło uratować tysiące chorych poprzez zahamowanie specyficznych kinaz białkowych prowadząc do inhibicji wzrostu tkanki nowotworowej.

Fosforylacja białek jest najważniejszym mechanizmem regulacji funkcji białek komórkowych. Modyfikacja ta zaangażowana jest w przełączanie aktywności komórkowych ze stanu aktywnego do nieaktywnego regulując w ten sposób ekspresję genów, proliferację i dyferencjację komórek. Jest to główny mechanizm, poprzez który komórki odpowiadają na sygnały zewnątrzkomórkowe takie jak czynniki wzrostu i hormony kontrolując wszystkie procesy na różnych etapach cyklu komórkowego, jak również reagując na stres środowiskowy. Oprócz nowotworzenia zahamowanie kinaz białkowych może być kluczowe w zatrzymaniu innych stanów patologicznych wliczając w to choroby neurologiczne i autoimmunologiczne.

Do enzymów cieszących się dużym zainteresowaniem wielu badaczy ze względu na jego zaangażowanie w wielu stanach chorobowych człowieka należy także kinaza białkowa CK2. Mimo, że enzym ten odkryto ponad 60 lat temu pozostaje on kłopotliwą molekułą. Dzisiaj wiadomo, że jest on zaangażowany w modyfikację ponad 300 białek komórkowych. CK2 jest konstytutywnie aktywną Ser/Thr kinazą o strukturze tetrameru złożonego z dwóch podjednostek katalitycznych ( $\alpha$  i/lub  $\alpha'$ ) zasocjowanych z dimerem podjednostek regulatorowych ( $\beta$ ), chociaż, wolne podjednostki  $\alpha/\alpha'$  subunits pozostają katalitycznie aktywne. Odgrywa on kluczową rolę w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych oraz jest związany z wielu procesami fizjologicznymi i patologicznymi oraz jest powiązana z wieloma chorobami nowotworowymi, autoimmunologicznymi i zakaźnymi. Badania biochemiczne i genetyczne demonstrowują, że CK2 uczestniczy w regulacji procesów o fundamentalnym znaczeniu dla wielu aspektów życia i dlatego nie jest niespodzianką, iż perturbacje w ekspresji CK2 są zasocjowane z chorobami człowieka. Wysoka aktywność CK2 jest obserwowana w wielu nowotworach złośliwych w tym w białaczkach. Zastosowanie inhibitorów CK2 w nowotworach piersi, prostaty i płuc jest testowane w wielu laboratoriach. W czasie ostatnich 20 lat odkryto wiele inhibitorów CK2 ale jedynie jeden z nich, CX-4945, został ostatnio dopuszczony do II fazy badań klinicznych jako potencjalny lek antynowotworowy.

Obserwacje, że CK2 z jednej strony jest promotorem przeżycia komórki a z drugiej jest używana przez wiele wirusów do fosforylacji białek ważnych dla ich cyklu życiowego prowadzi do koncepcji, iż inhibitory CK2 w perspektywie mogą przeistoczyć się w narzędzia terapeutyczne.

### **Protein kinase CK2 as a therapeutic target**

Protein kinases stand in the center spotlight of academic and industrial research. The launched drugs Gefitinib, Erlotinib, and Gleevec have already helped to save thousands of lives by inhibiting specific kinase leading to inhibition of cancer growth.

Protein phosphorylation is the most important pathway for regulation of protein function in living cells. It is involved in the switching of cellular activities from active state to inactive and, in this way, regulates gene expression, cellular proliferation, and cell differentiation. It is the major mechanism by which cells respond to extracellular signals, such as growth factors and hormones, and controls all events in the various stages of the cell cycle, as well as the response of the cell to environmental stress. Besides cancer, the inhibition of kinases may be the key to treating other diseases, including neurological and autoimmune diseases.

Protein kinase CK2 belongs to the enzymes having a great deal of concentrate attention of many scientist on account of its involvement in wide range of human diseases. Although the enzyme was discovered over 60 years ago it still stays embarrassing molecule. Now is known that it is implicated in modification of over 300 cellular proteins. CK2 is constitutive active, tetrameric Ser/Thr kinase consisting of two catalytic ( $\alpha$  and/or  $\alpha'$ ) associated with dimer of regulatory subunits ( $\beta$ ), however, the free  $\alpha/\alpha'$  subunits are catalytically active by themselves. It plays a key role in several physiological and pathological processes and has been connected to many neoplastic, inflammatory, autoimmune and infectious disorders. Biochemical and genetic studies demonstrate that CK2 participates in the regulation of processes that are fundamental to many aspects of life. Accordingly, it is not surprising that perturbations in the expression of CK2 are associated with human disease. Elevated CK2 activity has been observed in many malignant cancers including leukemia. Application of CK2 inhibitors in breast, prostate and lung cancers is tested in many laboratories. In the last 20 years, several inhibitors of CK2 have been discovered though only one of these, CX-4945, has recently entered into phase II clinical trials as potential anticancer drug.

Observations that CK2 in one hand promotes cell growth and survival, and in other hand is used by many viruses for phosphorylation proteins important for their cell cycle leads to concept, that CK2 inhibitors in perspective may become to therapeutic tools.

## **Mikrobiom przewodu pokarmowego (microbiota GI) człowieka w zdrowiu i w chorobie**

Adam Jaworski

Instytut Mikrobiologii Uniwersytetu Łódzkiego, Instytut Nauk o Zdrowiu, Społeczna Akademia Nauk

W czasie wykładu zostaną przedstawione dane literatury światowej z ostatnich 10 lat na temat biologii „świata” bakterii zasiedlających ludzki organizm, ich roli biologicznej i znaczenia dla zdrowia każdego człowieka. Uwagę skoncentruje się na bardzo szybko narastającej wiedzy dotyczącej ogromnych i bardzo różnorodnych populacji bakterii przewodu pokarmowego człowieka. Zostaną przedstawione wyniki licznych prac doświadczalnych, a także hipotezy i wnioski z prac pogładowych oraz monografii dotyczące: składu i różnorodności populacji bakterii kolonizujących przewód pokarmowy noworodka, człowieka dorosłego oraz zmian zachodzących w podeszłym wieku, roli biologicznej mikrobioty dla zdrowia człowieka, a także skutków naruszania symbiotycznej równowagi pomiędzy mikrobiotą a gospodarzem. Szczególna uwaga zostanie skoncentrowana na zaskakujących wynikach prac z ostatnich kilku lat na temat dróg i mechanizmów komunikacji pomiędzy mikrobiotą przewodu pokarmowego człowieka a ośrodkami w mózgu, które wskazują na istotny udział bakterii przewodu pokarmowego w kształtowaniu także zdrowia psychicznego człowieka.

### **Structure and functional capacity of the bacterial human gastrointestinal microbiota in healthy state and variety of disease state**

During my lecture I will present data from the world literature of the past ten years in the field of the biology of bacterial “kingdom” inhabiting human organism, its biological role and its importance for human health. I will focus on the rapidly growing knowledge of the enormous and very diverse bacterial population of the digestive tract. I will present the results of numerous experimental works as well as hypotheses and conclusions from the reviews and the monographs on the composition and the diversity of bacterial populations, colonizing the digestive tract of the new born babies and adults as well as changes occurring in the old age, the biological role of this microbiota for human health and the consequences of the disruption of symbiotic host - microbiota equilibrium. I will pay special attention to the surprising results of the past few years experimental works on the pathways and mechanisms of communication between the microbiota of the digestive tract and the brain centers, which shows how significant role bacteria of the digestive tract play also in maintaining mental health in humans.

## **Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) z biodetekcją jako metoda określania aktywności biologicznej substancji naturalnych**

Monika Waksmundzka-Hajnos

Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej,  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4a 20-093 Lublin, e-mail: monika.waksmundzka-hajnos@umlub.pl

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) połączona z biodetekcją jest bardzo użyteczna w szerokich badaniach przesiewowych ekstraktów roślinnych w celu wyłonienia związków aktywnych biologicznie. Chromatografia cienkowarstwowa jest najczęściej jedyną metodą wykrywania związków aktywnych farmakologicznie. TLC daje bowiem możliwość rozdzielania wielu próbek równolegle w tych samych warunkach i w tym samym czasie i uzyskania wielu wyników jednocześnie. Doświadczenia mogą być przeprowadzone z użyciem surowych ekstraktów roślinnych, co daje oszczędność czasu i pracy w związku z brakiem etapu oczyszczania próbki przed analizą. Płytkę z rozdzielonym ekstraktem może być obserwowana w różnych warunkach i skanowana pod różnymi długościami fali a następnie można przeprowadzić biodetekcję. W takiej sytuacji chcemy wykryć tylko te związki, które wykazują określoną aktywność biologiczną. I właśnie to porównanie detekcji fizykochemicznej i biologicznej daje możliwość rozpoznania, który związek lub grupa związków wykazuje określoną aktywność. To jest pierwszy krok do uzyskania informacji na temat kandydatów na leki przed badaniami tożsamości związków, ich izolacji i badań ich aktywności w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

W taki sposób można wykryć substancje o różnej aktywności jak: antybiotyki i chemoterapeutyki, nowe leki dla terapii choroby Alzheimera i innych chorób neurodegeneracyjnych, cukrzyca, otyłość, depresja, dna moczanowej itp. Ponadto można wykryć zmiatacze wolnych rodników, które zapobiegają negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego. Detekcja antybiotyków może być przeprowadzona na drodze bioautografii przy zastosowaniu bakterii rosnących bezpośrednio na płytce. Po zastosowaniu odczynnika barwiącego kolonie bakterii antybiotyki są widoczne jako jasne strefy na kolorowym tle. Detekcja inhibitorów różnych enzymów jak: acetylocholinoesterazy, - i  $\beta$ -glukozydazy, lipazy polega na ich użyciu do pokrycia płytki i po odpowiedniej inkubacji a następnie na dalszej detekcji w odpowiednich warunkach. To pozwala na uwidocznienie substancji hamujących te enzymy, które pojawiają się jako białe strefy na barwnym tle.

W celu detekcji zmiataczy wolnych rodników przeprowadza się różne testy przy użyciu barwnych stabilnych wolnych rodników jak: DPPH', ABTS oraz metodą z użyciem  $\beta$ -karotenu i kwasu linolenowego.

Słowa klucze: chromatografia cienkowarstwowa, biodetekcja, związki bioaktywne

### **Thin Layer Chromatography (TLC) with biodetection as a method for determining the biological activity of natural substances**

Thin-layer chromatography (TLC) combined with biodetection is very useful in extensive screening of plant extracts to identify biologically active compounds. Thin layer chromatography is most often the only method of detecting pharmacologically active compounds. TLC enable to split multiple samples in parallel under the same conditions and at the same time and get multiple results simultaneously. Experiments can be carried out using raw plant extracts, which saves time and labor due to the lack of a sample purification step prior to analysis. The extracted plate can be observed under different conditions, scanned at different wavelengths and subjected to biodetection. In this situation, it is possible to detect only compounds that exhibit a specific biological activity. The comparison of physicochemical and biological detection make it is possible to identify which compound or a group of compounds exhibit specific biological activity. This is the first step to getting information on drug candidates before carrying research on identity of the compounds, their isolation as well determination of their *in vitro* and *in vivo* activity.

In this way substances with different activities can be detected like antibiotics and chemotherapeutics, new drugs for the treatment of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases, diabetes, obesity, depression, gout, etc. Additionally, free radical scavengers can be detected to prevent negative effects of oxidative stress. Antibiotic detection can be performed by bioautography using bacteria that grow directly on the plate. After antibiotic colourants are used, antibiotics are visible as bright zones on a colored background. The detection of inhibitors of various enzymes such as acetylcholinesterase,  $\beta$ -glucosidase and lipase is based on their use to cover the plate and after appropriate incubation followed by further detection under appropriate conditions. This allows to visualize the inhibitory substances of these enzymes that appear as white zones on a colored background. For the detection of free radical scavengers, different assays are performed using color stable free radicals such as DPPH<sup>•</sup>, ABTS and the method of using  $\beta$ -carotene and linolenic acid.

Keywords: thin-layer chromatography, biodetection, bioactive compounds

## Enzymy w higienie jamy ustnej

Małgorzata Pleszczyńska

Zakład Mikrobiologii Przemysłowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Infekcje jamy ustnej, takie jak próchnica zębów należą do najpowszechniejszych problemów zdrowotnych. Ich przyczyną jest biofilm, płytka nazębna, czyli wspólnota mikroorganizmów, które rozwijają się na powierzchni zębów otoczone wytworzoną przez bakterie zewnątrzkomórkową matriks. Jednak płytka nazębna jest jednocześnie elementem systemu obronnego gospodarza. Przez lata leczenie chorób związanych z biofilmem oparte było przede wszystkim na stosowaniu chemicznych środków antybakteryjnych. Ostatnio pojawiają się mniej inwazyjne rozwiązania biotechnologiczne, np. wykorzystanie w walce z chorobami jamy ustnej enzymów.

Celem dla enzymów mogą być zarówno próchnicotwórcze organizmy, jak i kluczowe składniki matriks, spełniającej istotne dla biofilmu zadania. Enzymy oksydacyjne, takie jak laktoperoksydazy i lizozym hamują lub ograniczają wzrost patogenów jamy ustnej, wspierając naturalne systemy obronne gospodarza, hydrolazy (mutanazy i dekstranazy) degradują ważne polisacharydowe składniki matriks biofilmu, a proteazy ograniczają adhezję bakterii do powierzchni w jamie ustnej i wpływają na oddziaływania komórka-komórka. Naturalne, bezpieczne, biodegradowalne i specyficzne enzymy, które minimalnie oddziałują na żywotność komensalnych bakterii biofilmu mogą być atrakcyjnym uzupełnieniem konwencjonalnych terapii chorób jamy ustnej. Ich skuteczność potwierdzają badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Stosowanie enzymów ma też ograniczenia, które można przewyżczać wykorzystując w tym celu postęp nauk biotechnologicznych.

Słowa klucze: Zapobieganie próchnicy, Płytko nazębna, Enzymy przeciwdrobnoustrojowe, Glukanohydrolazy, Proteazy

## Enzymes in oral care

Infections of the oral cavity, including dental caries, represent the most prevalent health problems. Biofilm is the main cause of the diseases, but at the same time, is part of the host defense system. Biofilm, dental plaque, is a microbial community that develops on the tooth surface, embedded in an extracellular matrix of bacterial origin. For years, treatment of the biofilm-related diseases was largely based on antibacterial chemical agents. Recently, however, there has been growing interest in the application of more preventive and minimally invasive biotechnological methods, for instance application of enzymes.

Both cariogenic microorganisms and the key components of oral biofilm matrix may be the targets of the enzymes. Oxidative salivary enzymes inhibit or limit the growth of oral pathogens, thereby supporting the natural host defense system, polysaccharide hydrolases (mutanases and dextranses) degrade important carbohydrate components of the biofilm matrix, whereas proteases disrupt bacterial adhesion to oral surfaces or affect cell-cell interactions. Natural, safe, biodegradable, and highly specific enzymes, which minimally affect the viability of commensal oral bacteria, represent an attractive approach for therapy/prevention of oral diseases. The efficiency of the enzymes in *in vitro* and *in vivo* studies has been confirmed. However, the application of enzymes has some limitations that can be overcome by techniques offered by modern biotechnology.

Keywords: Caries control, Dental plaque, Antimicrobial enzymes, Glucan hydrolases, Proteases



## Inżynieria tkankowa – nowoczesna strategia regeneracji tkanki kostnej

Agata Przekora

Katedra i Zakład Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

W rozwijającej się populacji europejskiej, wciąż pojawiają się tysiące przypadków ciężkich złamań i ubytków w tkance kostnej, wymagających chirurgicznej interwencji. We współczesnej medycynie istnieje kilka metod leczenia ubytków kostnych, mających na celu przyspieszenie procesu regeneracji tkanki kostnej oraz tym samym poprawę współczynnika sukcesu zabiegów operacyjnych. Niemniej jednak, w niektórych przypadkach – takich jak rozległe ubytki kostne, złamania osteoporotyczne lub ubytki kostne/złamania u pacjentów onkologicznych po przebytej radioterapii – regeneracja tkanki kostnej jest utrudniona i wymaga zastosowania nowoczesnej strategii jaką jest inżynieria tkankowa. Inżynieria tkankowa kości wykorzystuje biomateriały implantacyjne jako rusztowania – szkielety dla komórek macierzystych i osteoprogenitorowych w celu tymczasowego podtrzymania funkcjonowania, wzrostu oraz organizacji tkanki kostnej podczas procesu jej regeneracji. Nowatorskie podejście do medycyny regeneracyjnej kości zakłada wytworzenie metodami inżynierii tkankowej tzw. autologicznego żywego wszczepu poprzez zasiedlenie w warunkach *in vitro* rusztowania kostnego komórkami osteoprogenitorowymi wyprowadzonymi z organizmu pacjenta – biorcy. Innowacyjne produkty inżynierii tkankowej (PIT) zawierające komórki macierzyste pozwalają poprawić proces gojenia kości poprzez ograniczenie tworzenia się zwłóknień w obrębie biomateriału oraz przyspieszenie procesów angiogenezy i regeneracji w miejscu implantacji.

Słowa klucze: biomateriały, rusztowania kostne, produkty inżynierii tkankowej (PIT), komórki macierzyste, medycyna regeneracyjna

### Tissue engineering – modern approach to regeneration of bone tissue

In the developing European population, there are still thousands of cases of severe fractures and defects in bone tissue requiring surgical intervention. In contemporary medicine there are several methods for bone defects treatment in order to accelerate the regeneration of bone tissue and thus to improve the success rate of surgical procedures. However, in some cases – such as extensive bone defects, osteoporotic fractures or bone defects/fractures in oncological patients who underwent radiotherapy – regeneration of bone tissue is hindered and requires application of modern strategy like tissue engineering. Bone tissue engineering uses implantable biomaterials as scaffolds for stem and osteoprogenitor cells in order to temporarily maintain function, growth, and organization of bone tissue during the process of its regeneration. Modern approach to bone tissue engineering involves generation of the so-called autologous living bone graft via scaffold inoculation in *in vitro* conditions with osteoprogenitor cells isolated directly from the organism of the patient – recipient. Innovative tissue engineered products (TEPs) containing stem cells allow to improve bone healing process with lower fibrosis generation, better angiogenesis, and faster regeneration processes at the site of implantation.

Keywords: biomaterials, bone scaffolds, tissue engineered products (TEPs), stem cells, regenerative medicine

## **Znaczenie zwierząt bezkręgowych w biotechnologii**

Adam Bownik

Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Biologii,  
Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Bezkręgowce są coraz powszechniej stosowanymi organizmami w badaniach biologicznych. Ze względu na niskie koszty, łatwość prowadzenia hodowli, oraz wysoką wrażliwość na związki bioaktywne zwierzęta te szeroko wykorzystywane są jako bioindykatory w badaniach skreeningowych (np. do określania jakości wody) oraz jako organizmy modelowe w ocenie działania różnych związków bioaktywnych takich jak pestycydy oraz leki. W eksperymentach tego typu oprócz najpowszechniejszych biomarkerów jakimi są śmiertelność oraz immobilizacja coraz częściej określane są bardzo czułe parametry fizjologiczne (np. aktywność serca) oraz biochemiczne (np. poziom profenylooksydazy, białka szoku cieplnego). Ponadto, różne parametry ruchliwości niektórych gatunków bezkręgowców (jak np. *Daphnia* sp.) mogą być cennym źródłem informacji na temat efektów oddziaływania niektórych stresorów.

Słowa klucze: bezkręgowce, biotechnologia, bioindykatory

### **Significance of invertebrate animals in biotechnology**

Invertebrates are more and more widely used organisms in biological studies. They are easy for culturing with minimum costs and because of their high sensitivity to bioactive compounds, they are used as bioindicators in screening studies (for example for determination of water quality) and as model organisms in searching for various bioactive compounds such as pesticides or drugs. In such experiments, in addition to the most common biomarkers as mortality or immobilisation, very sensitive physiological parameters (such as heart activity) and a wide range of biochemical endpoints (prophenyloxidase level, heat shock proteins) are more often determined. Moreover, determination of motility parameters characteristic to some invertebrate species (*Daphnia* sp) may be a valuable method to obtain scientific data on the effects induced by some stressors.

Keywords: invertebrates, biotechnology, bioindicators

## **Działanie skojarzone nowych pochodnych kwasu cynamonowego z doxorubicyną - perspektywa rozwoju bezpiecznej i skutecznej chemioterapii**

Paulina Koczurkiewicz<sup>1</sup>, Kamil Piska<sup>1</sup>, Agnieszka Gunia-Krzyżak<sup>2</sup>,  
Adam Bucki<sup>3</sup>, Katarzyna Wójcik-Pszczoła<sup>1</sup>, Elżbieta Pękala<sup>1</sup>

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie, Wydział Farmaceutyczny, <sup>1</sup>Zakład Biochemii Farmaceutycznej, <sup>2</sup>Zakład Chemii Bioorganicznej, <sup>3</sup>Katedra Chemii Farmaceutycznej, Zakład Chemii Leków

Chemioterapia z udziałem doxorubicyny (DOX) obarczona jest działaniami niepożądanymi (kardiotoksyczność oraz oporność komórek nowotworowych). Dowiedziono, że za oba efekty odpowiada metabolit, który pojawia się jako produkt biotransformacji leku. Enzymem odpowiedzialnym za metabolizm DOX jest reduktaza karbonylowa (CBR1). W związku z niekorzystną aktywnością metabolitu DOX istnieje wyraźna potrzeba poszukiwania inhibitorów reduktazy karbonylowej. W trakcie poszukiwań nowych inhibitorów enzymu CBR 1 nasza grupa zwróciła uwagę na kwas cynamonowy. Wybór kwasu cynamonowego, jako struktury wiodącej podyktowany był obecnością w jego cząsteczce układu 3-fenyloprop-2-enylowego z ugrupowaniem karbonylowym przy węglu C1, kluczowego dla interakcji z CBR1. W pracy zbadano synergię pomiędzy 15 nowo zsyntetyzowanymi pochodnymi kwasu cynamonowego (CYN 1-15) a DOX. W tym celu przeprowadzono analizę cytotoksyczności podania skojarzonego CYN oraz DOX względem komórek linii drobnokomórkowego raka płuc A549 (o podwyższonej ekspresji enzymu CBR1), a dla najbardziej obiecujących pochodnych wykonano badania stabilności metabolicznej, a także określono profil bezpieczeństwa. Wstępne badania dowiodły, że syntetyczne analogi kwasu cynamonowego 1-15 wykazują zróżnicowane działanie synergistyczne z doxorubicyną. Biorąc pod uwagę uzyskane rezultaty można wnioskować, że wywołują nowe, korzystne efekty, niecharakterystyczne dla każdego ze związków działających oddzielnie. Otrzymane rezultaty zachęcają do dalszych badań, nad nowym, skutecznym inhibitorem CBR 1 w grupie pochodnych kwasu cynamonowego.

Słowa kluczowe: terapie skojarzone, kwas cynamonowy, doxorubicyna

Badania zostały sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki 2016/21/D/NZ7/01546.

## **Co-treatment of new derivatives of cinnamic acid with doxorubicin - the prospect of developing safe and effective chemotherapy**

Doxorubicin (DOX) chemotherapy is associated with undesirable effects (cardiotoxicity and tumor cell resistance). It has been proven that both effects correspond to the metabolite that appears as a drug biotransformation product. The enzyme responsible for DOX metabolism is carbonyl reductase (CBR1). Due to the adverse activity of DOX metabolite, there is a clear need for searching a new carbonyl reductase enzyme inhibitors. During the search for new inhibitors of CBR 1 enzyme, our group took into consideration cinnamic acid. The choice of cinnamic acid as the leading structure was dictated by the presence in the structure the 3-phenylprop-2-enyl with carbonyl moiety at carbon C1, key for CBR1 interaction. The study examined the synergy between the newly synthesized cinnamic acid derivatives (CYN 1-15) and DOX. For this purpose, CYN and DOX cytotoxicity analysis was performed for small lung cancer cells A549 and for the most promising derivatives metabolic stability studies were performed and a safety profile was determined. Preliminary studies have shown that synthetic cinnamic acid analogues 1-15 exhibit differentiated synergistic effects with doxorubicin. Taking into account the results, it can be concluded that they produce new, beneficial effects, not characteristic for each of the compounds acting separately. These results encourage further research into a novel, effective CBR 1 inhibitor in the cinnamic acid derivatives.

Keywords: co-treatment, doxorubicin, cinnamic acid derivatives

### Zastosowanie kationowych pochodnych poliizoprenoidów jako nośników kwasów nukleinowych

Monika Rak<sup>1</sup>, Anna Ochalek<sup>1</sup>, Ewa Bielecka<sup>2</sup>, Joanna Latasiewicz<sup>3</sup>, Katarzyna Gawarecka<sup>4</sup>,  
Jolanta Sroka<sup>1</sup>, Jarosław Czyż<sup>1</sup>, Katarzyna Piwowarczyk<sup>1</sup>, Marek Masnyk<sup>5</sup>, Marek  
Chmielewski<sup>5</sup>, Tadeusz Chojnacki<sup>4</sup>, Ewa Swiezewska<sup>4</sup>, Zbigniew Madeja<sup>1</sup>

<sup>1,2,3</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii; <sup>1</sup> Zakład Biologii Komórki,  
<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii, <sup>3</sup> Zakład Biofizyki Komórki; <sup>4</sup> Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie;  
<sup>5</sup> Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie

Rozwój narzędzi do przenoszenia kwasów nukleinowych do komórek oraz postęp w rozumieniu patogenezы wielu chorób zaowocowały stosowaniem kwasów nukleinowych jako leków a ich transfer stał się techniką biologii molekularnej o zastosowaniu w praktyce klinicznej. Wyzwaniem terapii genowej pozostaje jednak brak skutecznych i bezpiecznych nośników.

Wyniki badań nad nowymi lipidowymi nośnikami DNA – jodkami trimetylopoliprenyloamoniowymi (PTAI) pokazują, że umożliwiają one wydajną transfekcję wielu typów komórek. Właściwości lipofekcyjne PTAI pozwalają na uzyskanie wysokiej wydajności lipofekcji z użyciem ujemnie naładowanych lipopleksów o wielkości 200-500 nm bez istotnych skutków ubocznych. Użycie różnych lipidów pomocniczych pozwala na wydajne wprowadzanie zarówno DNA, jak i RNA do wielu typów komórek eukariotycznych w warunkach bezsurowiczych i w obecności surowicy, czyniąc lipopleksy oparte na PTAI odpowiednimi do zastosowań *in vivo*. Opracowane preparaty są stabilne podczas przechowywania i mają działanie antybakteryjne przeciwko *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*. Opracowane lipopleksy są również bezpieczne dla erytrocytów krwi ludzkiej.

Podsumowując, opracowane odczynniki są interesującą alternatywą dla obecnie oferowanych na rynku lipofektantów.

Słowa klucze: terapia genowa, nośniki niewirusowe, transfekcja, lipofekcja, poliizoprenoidy

Podziękowania: Badania finansowane z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (grant nr UDA-POIG.01.03.01-14-036/09-00) oraz grantów Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ (BMN14/2014, BMN27/2017).

### **Application of cationic polyprenyl derivatives as nucleic acids carriers**

The development in the field of DNA and RNA delivery into cells and progress in understanding pathogenesis of many diseases resulted in nucleic acids becoming actually drugs and their delivery one of the molecular biology techniques applicable in clinics. Still, one of the major challenges of gene therapy is lack of efficient and safe carriers.

We examined a new class of lipids for gene transfer - polyprenyltrimethylammonium iodides (PTAI) that effectively transfect nucleic acids in a wide range of cell types. The results show that lipofecting activity of PTAI allows to effectively transfect plasmid DNA complexed in negatively charged lipoplexes of 200-500 nm size into cells without significant side effects on cell physiology. Moreover, modification of lipoplexes with co-lipids enables DNA and RNA transfer into a wide range of cell types both in the presence and absence of serum making them suitable for *in vivo* applications. PTAI-based carriers can be stored for extended periods of time and exhibit bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Developed lipoplexes also do not affect human erythrocytes.

In conclusion, developed carriers constitute an interesting alternative for commercially available lipofection reagents.

Keywords: gene therapy, non-viral vector, transfection, lipofection, polyisoprenoids

Acknowledgements: Work financed by European Regional Development Fund (grant UDA-POIG.01.03.01-14-036/09-00) and grants of the Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University (BMN14/2014, BMN27/2017).



Referaty  
*Biotechnologia przemysłowa  
i środowiskowa*

## **Interpretacja przesłanek patentowalności w kontekście wynalazków biotechnologicznych**

Dr Dariusz Kasprzycki

Katedra Prawa Własności Intelektualnej UJ

Punktem wyjścia dla rozważań będzie pojęcie wynalazku biotechnologicznego, przyjęte w dyrektywie biotechnologicznej (dyrektywa 98/44/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 6 lipca 1998 r. w sprawie ochrony prawnej wynalazków biotechnologicznych). Zasadnicza treść wystąpienia będzie natomiast dotyczyć interpretacji przesłanek patentowalności dla wynalazków biotechnologicznych. Mimo, iż każda z podstawowych przesłanek (nowość, poziom wynalazczy, przemysłowe zastosowanie, techniczny charakter) jest taka sama na poziomie normatywnym dla wynalazków biotechnologicznych i nie-biotechnologicznych, ich interpretacja przejawia daleko idącą specyfikę. W tym zakresie dominuje podejście liberalne umożliwiające szerokie patentowanie wynalazków biotechnologicznych. Podejście to jest poparte brzmieniem dyrektywy biotechnologicznej dopuszczającej, m.in. patentowanie materiału biologicznego, jedynie wyizolowanego z naturalnego środowiska, nawet jeśli występował poprzednio w naturze. Jednakże to stanowisko przez lata stało się źródłem wielu kontrowersji szeroko obecnych w doktrynie prawa własności intelektualnej a odzwierciedlanych również w coraz bogatszym orzecznictwie. Dodatkowym zagadnieniem, szalenie istotnym w kontekście możliwości szerokiego obejmowania ochroną wynalazków biotechnologicznych, jest wyłączenie patentowalności ze względu na dobre obyczaje, porządek publiczny i moralność, które to w przypadku biotechnologii również są specyficznie rozumiane.

Słowa klucze: patent, wynalazek biotechnologiczny, nowość, poziom wynalazczy, przemysłowe zastosowanie, moralność

### **Interpretation of patentability in the context of biotechnological inventions**

The starting point for the discussion will be the notion of biotechnological invention, as adopted in the Biotechnology Directive (Directive 98/44/EC of the European Parliament and of the Council of 6 July 1998 on the legal protection of biotechnological inventions). The basic content of the speech will, however, relate to the interpretation of the patentability criteria for biotechnological inventions. Although each of the basic requirements (novelty, inventive step, industrial capability, technical character) is the same at the normative level for biotechnological and non-biotechnological inventions, their interpretation has a lot of specifics. The liberal approach to patenting biotechnological inventions is since years dominant. This approach is supported by the wording of the Biotechnology Directive allowing, inter alia, the patenting of biological material, only isolated from the natural environment, even previously existing in nature. However, this position over the years became the source of many controversies broadly reflected in the doctrine of intellectual property law, and in the ever-growing jurisprudence. Another issue, particularly important in the context of broad protection of biotechnological inventions, is the exclusion of patentability due to contradiction with good habits, public order and morality. All of these terms are also specifically understood in biotechnology.

Keywords: patent, biotechnology invention, novelty, inventive step, industrial application, morality



## **Biotechnologiczny potencjał w tworzeniu niskoemisyjnych źródeł energii**

Zofia Stępniewska

Kierownik Katedry Biochemii i Chemii Środowiska, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Rozwój społeczeństw powoduje rosnące zapotrzebowanie na energię. Uszczuplające się zasoby naturalnych nośników energii, skłaniają do sięgania po coraz droższe eksploatacje złóż i poszukiwania nowych. Z drugiej strony obserwowane gwałtowne zmiany klimatu, związane ze wzrastającym efektem szklarniowym, wywołanym wzmożoną emisją gazów do atmosfery, szczególnie pochodzenia antropogenicznego, skłaniają do coraz to nowych poszukiwań w zakresie paliw niskoemisyjnych i odnawialnych.

Międzynarodowe grupy eksperckie jak IPCC RC&NAS opracowują regularne raporty i prognozują zmiany klimatu opierając się na kumulacyjnym efekcie cieplarnianym, wywołanym przez emitowane do atmosfery gazy szklarniowe w tym głównie przez CO<sub>2</sub> - produkcie spalania tradycyjnych paliw, CH<sub>4</sub> - uwalnianym przy wszelkich pracach górniczych. Jednym z podejmowanych przez naukowców działań jest włączenie potencjalnych możliwości biotechnologii w formowaniu paliw opartych na mikrobiologicznym wykorzystaniu biomasy w bioogniwach paliwowych, biogazowniach czy biokonwersji węgla do metanu, bardziej wydajnego energetycznie. Wszystkie te rozwiązania wykorzystują szerokie spektrum mikroorganizmów, naturalnie występujących w ekosystemach, których efektywność działania i optymalizacja procesów podlega szerokim badaniom. Niejednokrotnie proponuje się organizmy modyfikowane genetycznie, jako bardziej wydajne i wskazane ze względów ekonomicznych.

Aspekt ekonomiczny i środowiskowy każdego z podejmowanych działań wymaga oddzielnego rozpatrzenia, aby nie wywołać negatywnych efektów ubocznych a rachunek ekonomiczny uwzględniał składowe nie tylko związane z wytwarzaniem energii ale i wszystkie efekty środowiskowe, jak uwalnianie gazów towarzyszących produkcji biopaliw oraz koszty konkretnych działań związanych z zagospodarowaniem wytworzonych odpadów.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2015/17/B/NZ9/01662 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

### **Biotechnological potential in the creation of low- emission energy system**

The development of societies causes a growing demand for energy. The depleting resources of natural energy carriers encourage the tendency to increasingly expensive mining and exploration. On the other hand, the rapid climate change associated with the increasing greenhouse effect caused by gaseous emissions, particularly of anthropogenic origin, has prompted renewed research on low- emission energy systems. International expert groups like IPCC RC & NAS develop regular reports and forecast climate change based on the cumulative effect of greenhouse gases emitted to the atmosphere, primarily CO<sub>2</sub> - a traditional fuel combustion product, CH<sub>4</sub> - released at all mining operations and others. One of the activities undertaken by the researchers is development of potential biotechnology opportunities in microbial transformation of biomass in fuel cells, biogas plants and bioconversion of coals to methane, which is more energy efficient. All these solutions utilize a wide spectrum of microorganisms naturally occurring in ecosystems whose performance and process optimization is subject to extensive research. Genetically modified organisms are often proposed as being more efficient and economically viable.

The economic and environmental aspects of each action need to be considered separately so as not to produce negative side effects and the economic account includes components not only for energy generation but also for all environmental effects such as the release of gases associated with the production of biofuels and the cost of specific produced waste.

This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2015/17/B/NZ9/01662.

## **Od grzybni do kłębka - synteza barwników tekstylnych**

Anna Jarosz-Wilkołazka, Jolanta Polak, Kamila Wlizło, Marcin Grąz

Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Właściwości katalityczne wielu enzymów z grupy oksydoreduktaz znalazły zastosowanie w procesach technologicznych związanych z przemysłem tekstylnym, produkcją żywności oraz z diagnostyką medyczną. Na szczególną uwagę zasługują reakcje katalizowane przez lakazy grzybowe, które wykazują ogromny potencjał aplikacyjny w syntezie nowych struktur chemicznych bądź w przekształceniach istniejących związków chemicznych, co jest alternatywą dla syntezy chemicznej. Reakcje katalizowane przez lakazę możemy podzielić na trzy grupy: reakcje utleniania prostych pochodnych fenolowych bez udziału mediatora, utlenianie substratów wymagające dodatkowej obecności związku tzw. mediatora oraz reakcje sprzęgania. Szczególnie ten trzeci typ reakcji jest źródłem wielu niezwykle cennych nowych związków chemicznych, które jako substancje barwne mogą znaleźć zastosowanie jako barwniki tekstylne, wykazujące dodatkowo właściwości antymikrobiologiczne i antyoksydacyjne. W procesach biokatalizy można stosować zarówno oczyszczony enzym (lakazę grzybową) lub też hodowle grzybów ligninolitycznych, wydzielających do podłoża enzym, który transformuje bezbarwne prekursorzy w barwne produkty.

Słowa klucze: lakaza, grzyby ligninolityczne, biokataliza, transformacja, barwniki tekstylne

## **From mycelium to ball – fungal synthesis of textile dyes**

Laccases catalyze oxidative conversion of a broad range of substrates such as phenols or lignin-derivatives. They also have an ability to induce oxidative coupling reactions of the free radical intermediates to related phenolic structures. The application of laccases-mediated coupling reactions in white biotechnology represents a promising alternative to chemical synthesis of products of commercial importance. The goal of this presentation is to present potential application of fungal laccases and whole cell cultures of ligninolytic fungi, focusing specifically on their use as biocatalysts in environmental friendly synthesis of new molecules about dyeing and antimicrobial properties.

Keywords – laccase, ligninolytic fungi, biocatalysis, transformation, textile dyes

## Przemiany mleczanu w beztlenowym rozkładzie materii organicznej

Anna Detman, Anna Sikora

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

Beztlenowy rozkład materii organicznej do  $\text{CH}_4$  i  $\text{CO}_2$  wynika z aktywności metabolicznej wielu fizjologicznych grup mikroorganizmów i obejmuje: hydrolizę, kwasogenezę, octanogenezę i metanogenezę. Mleczan, istotny produkt fermentacji kwaśnych, jest kluczowym produktem pośrednim w beztlenowym rozkładzie materii organicznej w naturalnych środowiskach i biogazowniach. Niniejsza prezentacja obejmuje:

(i) Symbiotyczne interakcje między bakteriami fermentacji mlekowej i masłowej podczas kwasogenezы. Badania wskazują, że zjawisko transformacji mleczanu i octanu do maślanu i  $\text{H}_2$  opisane dla bakterii przewodu pokarmowego, określone jako „cross-feeding”, zachodzi również w bioreaktorach fermentacji wodorowych i poprawia wydajność produkcji  $\text{H}_2$ .

(ii) Przemiany metaboliczne mleczanu w czasie octanogenezы i metanogenezы. Nasze wyniki wskazują, że mleczan utleniany jest do octanu, co warunkuje acetotroficzny szlak metanogenezы. Utlenianie mleczanu do substratów dla metanogenów jest najatrakcyjniejszym energetycznie procesem w porównaniu do utleniania maślanu, propionianu lub etanolu. Geny kodujące enzymy beztlenowego utleniania mleczanu, homologiczne do tych opisanych u *Acetobacterium woodii* i *Desulfovibrio vulgaris* są szeroko rozpowszechnione w domenie *Bacteria*.

Poznanie szlaku przemian mleczanu w bioreaktorach fermentacji wodorowych i metanowych jest kluczowe dla optymalizacji i opłacalności ekonomicznej pozyskiwania  $\text{H}_2$  i  $\text{CH}_4$  w celach energetycznych.

Słowa klucze: beztlenowy rozkład materii organicznej, wodór, układy symbiotyczne, beztlenowe utlenianie mleczanu, wspólnoty mikroorganizmów, metan

Sponsorowane przez: Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016; Narodowe Centrum Nauki, UMO-2015/17/B/NZ9/01718.

### Lactate metabolism in anaerobic digestion

Anaerobic digestion (AD), whose final products are CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>, comprises four major steps: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis. Lactate, a common product of acidogenesis, is a key intermediate of AD in the environment and biogas plants. This presentation focuses on:

(i) Symbiotic interactions between lactic acid bacteria and butyrate-producing bacteria during acidogenesis. Our research and some other studies indicate that lactic acid bacteria may support hydrogen production during acidogenesis. A phenomenon analogous to cross-feeding observed in the gastrointestinal tract, transformation of lactate and acetate to butyrate and H<sub>2</sub>, may occur in hydrogen-producing bioreactors and natural environments.

(ii) Metabolic transformation of lactate during the acetogenic and methanogenic steps of AD in methane-yielding bioreactors. Our results indicate that lactate is oxidized mainly to acetate during the acetogenic step of AD and this comprises the acetotrophic pathway of methanogenesis. Lactate oxidation to the substrates for methanogens is the most energetically attractive process in comparison to butyrate, propionate or ethanol oxidation. Genes encoding the lactate-oxidizing metabolic machinery homologous to those of *Acetobacterium woodii* and *Desulfovibrio vulgaris* are widespread in the domain *Bacteria*.

Recognition of lactate metabolism in AD is important for optimization and economical effect of H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> gain for energy.

Keywords: anaerobic digestion, hydrogen, “cross-feeding”, anaerobic lactate oxidation, microbial communities, methane

Supported by: The National Centre for Research and Development, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016; The National Science Centre, UMO-2015/17/B/NZ9/01718.

## **Badanie śladu węglowego w produkcji żywności**

Magdalena Wróbel-Jędrzejewska, Urszula Stęplewska, Elżbieta Polak

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego,  
Zakład Technologii i Techniki Chłodnictwa, 92-202 Łódź, Al. Marszałka J. Piłsudskiego 84

Wraz ze wzrostem liczby ludności na świecie rośnie zapotrzebowanie na żywność. Problem ten to nie tylko zaspokajanie podstawowych potrzeb pokarmowych człowieka, ale także zagadnienie ochrony środowiska podczas produkcji żywności. Jednym ze wskaźników oceniających wpływ danej technologii wytwarzania produktu rolno-spożywczego na środowisko naturalne jest ślad węglowy (CF), który określa ilość gazów cieplarnianych wyemitowanych podczas jej stosowania. Analiza tego wskaźnika umożliwiła podjęcie działań w celu świadomego zmniejszania emisji gazów cieplarnianych.

Do prac badawczych wybrano technologię produkcji pasty truskawkowej homogenizowanej, stanowiącej półprodukt smakowy do lodów lub nadziei do cukierków i czekolad. W oparciu o analizę procesu technologicznego zidentyfikowano etapy jednostkowe generujące ślad węglowy. Przyjęto do wycień CF m.in. odczyty wartości energii zużytej przy produkcji i przechowywaniu w komorach chłodniczych, emisji generowanej przez: dostawców, transport wewnętrzny, czynniki chłodnicze. Na tej podstawie opracowano mapy śladu węglowego produktów, ułatwiające identyfikację i pomiar emisji dwutlenku węgla w całym łańcuchu technologicznym.

Wyliczony wskaźnik śladu węglowego dla produkcji pasty truskawkowej homogenizowanej wyniósł 2,47 kg CO<sub>2</sub>/kg produktu. Stwierdzono, że głównym czynnikiem wpływającym na poziom emisji CO<sub>2</sub> przy produkcji past owocowych jest przede wszystkim proces produkcyjny, a w szczególności etapy przechowywania chłodniczego.

Słowa klucze: ślad węglowy (CF), technologia spożywcza, pasta owocowa, emisja CO<sub>2</sub>

### **Examination of carbon footprint within food production**

With the growth of the world population the demand for food is increasing. This problem is not only the meeting the basic human needs for food, but also the issue of environment protection during food production. Carbon footprint (CF) is an indicator that assesses the environmental impact of a given agri-food production technology and determines the amount of greenhouse gases emitted during this process. The analysis of such indicator enables the action to be taken to consciously reduce greenhouse gas emissions.

The technology of producing homogenized strawberry paste, which is a flavored semi-finished product for ice cream or candy and chocolate filling, has been selected as a research subject. Based on the analysis of the technological process, the unit stages which generate the carbon footprint have been identified. Measurements of energy used in production and storage in refrigeration chambers, emissions generated by suppliers, internal transport, refrigerants have been adopted for CF calculations. On this basis, carbon footprint maps have been developed to facilitate the identification and measurement of CO<sub>2</sub> emissions throughout the entire technological chain.

The calculated carbon footprint for homogenized strawberry paste production was 2,47 kg CO<sub>2</sub>/kg product. It was found that the main factor influencing CO<sub>2</sub> emissions in the production of fruit pastes is primarily the manufacturing process, and in particular the stages of refrigerated storage.

Keywords: carbon footprint, food technology, fruit paste, CO<sub>2</sub> emission

## **Mikrobiologiczna produkcja wodoru i metanu**

Anna Sikora

Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa

W ostatnim czasie rośnie zainteresowanie technologiami, których celem jest produkcja energii ze źródeł odnawialnych. Jedną z nich jest pozyskanie wodoru i metanu w wyniku beztlenowego rozkładu materii organicznej. Beztlenowy rozkład materii organicznej wynika z aktywności metabolicznej wielu grup fizjologicznych mikroorganizmów i stanowi ważne ogniwo w krążeniu materii i przepływie energii w ekosystemach. Proces ten zachodzi też powszechnie na wysypiskach śmieci, w oczyszczalniach ścieków i w biogazowniach, gdzie pozyskiwany jest metan. Ogólny schemat rozkładu związków organicznych do metanu i dwutlenku węgla jest powszechnie znany. Wyróżnia się w nim cztery etapy: hydroliza wielkocząsteczkowych związków organicznych; fermentacja produktów hydrolizy (faza kwaśna - acydogeneza), zachodzą tutaj fermentacje wodorowe; utlenianie niegazowych produktów fazy kwaśnej do kwasu octowego, dwutlenku węgla i wodoru (acetogeneza); metanogeneza. Prowadząc proces beztlenowego rozkładu materii organicznej w warunkach kontrolowanych, tj. rozdzielając fazę kwaśną od fazy metanogennej, możemy otrzymać osobno wodór i metan. W Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie we współpracy z Krajową Spółką Cukrową S.A. prowadzone są badania nad dwuetapowym systemem pozyskiwania wodoru i następnie metanu z produktów ubocznych i odpadowych przemysłu cukrowniczego przez wyselekcjonowane wspólnoty mikroorganizmów.

Słowa klucze: beztlenowy rozkład materii organicznej; mikroorganizmy; wodór; metan; układy syntroficzne; odnawialne źródła energii

Sponsorowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016.

### **Hydrogen and methane production by microorganisms**

There is currently great interest in the development of new technologies for the production of energy from renewable sources. Anaerobic digestion, whose final products are methane and carbon dioxide, is a common process in natural anaerobic environments ensuring energy flow and circulation of matter in ecosystems. It is also common in landfills and waste-water treatment plants. This naturally occurring process was used by man to produce biogas for energy. Anaerobic digestion is a complex process that requires the interaction of many groups of microorganisms responsible for, respectively, hydrolysis, acidogenesis (including hydrogen-yielding fermentations), acetogenesis (mainly syntrophic degradation of fermentation products) and methanogenesis. For the purpose of innovative, modern technologies based on microbial processes, it is desirable to separate the hydrogen- (hydrolysis and acidogenesis) and methane-yielding (acetogenesis and methanogenesis) stages of anaerobic digestion to respectively favour the production of hydrogen and methane under controlled conditions. These two processes are carried out in separate bioreactors with different pH conditions and hydraulic retention times. Research on the two-stage anaerobic digestion has been conducted for several years at the Institute of Biochemistry and Biophysics PAS in Warsaw in cooperation with Krajowa Spółka Cukrowa S.A.

Keywords: anaerobic digestion, microorganisms, hydrogen, methane, syntrophy, renewable energy

Supported by The National Centre for Research and Development, BIOSTRATEG2/297310/13/NCBiR/2016).

### **Metody obróbki celulozy ze słomy konopnej (*Cannabis Sativa L.*)**

Agnieszka Kasprzycka<sup>1</sup>, Justyna Lalak-Kańczugowska<sup>2</sup>, Ewa Gryt<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk; Doświadczalna 4, 20-290 Lublin,

<sup>2</sup> Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk; Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań,

<sup>3</sup> “ Efa GRYT ” Ewa Gryt, ul.Kościelniaka 26 a, 41-409 Mysłowice

Celem pracy było określenie optymalnych metod obróbki słomy konopnej w celu usunięcia ligniny ze struktury włókien, przy możliwie największym wzroście poziomu cukrów w płynach powarzelnych.

W badaniach zastosowano trzy metody: siarczynową, sodową i wapienną. Spośród wszystkich trzech metod najlepszą metodą okazała się metoda wapienna, gdzie wykorzystano  $\text{Ca(OH)}_2$  (wodorotlenek wapnia). Uzyskana masa okazała się najlepsza – jasna, nie wymagająca dodatkowego bielenia. Minusem tej metody jest bardzo niska rozpuszczalność wapnia w wodzie. Aby osiągnąć właściwą koncentrację, dodano sproszkowany wodzian wapnia do masy. Odpadem był biały ług, łatwy do oczyszczenia.

Metoda wapienna wykazuje największe możliwości obróbki słomy konopnej. Zastosowanie tej metody pozwoliło uzyskać najlepszy miąższ. Problemem jest jednak usunięcie nieprzereagowanego reagenta z masy, co przekłada się na proces pracochłonności.

### **Methods of obtaining cellulose from hemp straw (*Cannabis Sativa L.*)**

The aim of the study was to determine the digestion optimal methods of hemp straw to remove lignin from fiber structure. The methods had to demonstrate the highest possibility level increase of sugars in the liquid brewing liquids. These distilled sugars from liquids were to be subjected to an alcoholic fermentation process. This would result in the removal of carbohydrates from the fluids and, after further purification, return water to the circulation. In this study three methods have been used: sulphite, sodium and limestone.

From the three methods used in the study, the best method was lime.  $\text{Ca(OH)}_2$  (calcium hydroxide) was used for this process. This method gives an light mass - without bleaching. The problem of this method is very low solubility of calcium in water. To achieve the right concentration, it is assumed to add powdered calcium hydrate to the mass, which generating the problem of removing the excess after the process. The waste is a white lye, easy to clean. The lime method shows the greatest potential for cannabis digestion.

This work was supported by Operational Program Innovative Economy 2007-2013. "Waste-free technology of hemp, ethanol and fodder cellulose production" UDA-POIG.01.04.00-24-090/11-04.





# Postery

## Niskocząsteczkowe inhibitory kinazy białkowej CK2 osłabiają wirulencję *Candida albicans*.

Aleksandra Martyna<sup>1</sup>, Maciej Masłyk<sup>1</sup>, Konrad Kubiński<sup>1</sup>,  
Monika Janeczko<sup>1</sup>, Elżbieta Kochanowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Grzyby z rodzaju *Candida* m.in. *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. tropicalis* u ludzi zdrowych są elementem fizjologicznej flory błon śluzowych układu pokarmowego, oddechowego i moczowo-płciowego. W przypadku zaburzeń funkcjonowania układu immunologicznego mogą jednak rozwinąć mechanizmy umożliwiające ich przemianę w kierunku groźnych patogenów. Zakażenia *C. albicans* stanowią ok. 70% wszystkich infekcji oportunistycznych powodowanych grzybami *Candida* i dotyczą głównie osób długotrwale hospitalizowanych, poddawanych silnej antybiotykoterapii lub terapii immunosupresyjnej. Leczenie kandydoz, mimo postępów medycyny i mikrobiologii nadal napotyka wiele trudności i stanowi poważny problem kliniczny w skali światowej. Powodem tego jest nabycie przez *C. albicans* oporności wobec standardowych środków antymikotycznych, w związku z czym istotnym kierunkiem zwalczania zakażeń grzybiczych jest poszukiwanie nowych substancji hamujących wirulencję tych drobnoustrojów. Przykładami takich związków są cząsteczki funkcjonujące jako inhibitory kinazy białkowej CK2: 5-(3-chlorophenylamino)benzo[c] [2, 6] naphthyridine-8-carboxylic acid (CX-4945), 4-(hydroxyimino)-cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene(phenyl)ethanenitrile (4-AN) oraz (1,3,8-trihydroxy-6-methyl-anthraquinone) (emodyna). Przeprowadzone badania wykazały, że związki te skutecznie hamują wzrost szczepów *C. albicans*, wywołując zmiany morfologiczne osłabiają wirulencję i są efektywne w niskich dawkach, co pozwala traktować je jako obiecujące czynniki przeciugrzybicze.

Słowa kluczowe: *Candida albicans*, kinaza białkowa CK2, związki przeciugrzybicze

### Small-molecule inhibitors of protein kinase CK2 suppress *Candida albicans* virulence.

Yeasts belonging to the genus *Candida* i.a. *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. tropicalis* in healthy people are part of the physiological flora of the mucous membranes of the digestive, respiratory and genitourinary tracts. However, in case of a dysfunction of the immune system, they may develop mechanisms to transform themselves into dangerous pathogens. *C. albicans* infections represent about 70% of all opportunistic infections caused by *Candida* fungi and mainly affect people who are long-term hospitalized, subjected to strong antibiotic treatment or immunosuppressive therapy. Treatment of candidiasis, despite of the progress of medicine and microbiology, still faces many difficulties and is a serious clinical problem worldwide. The reason for this is that *C. albicans* acquired resistance to standard antimicrobial agents, so the major direction of fighting fungal infections is the search for new compounds that inhibit the virulence of these microorganisms. Examples of such compounds are molecules that act as inhibitors of protein kinase CK2 : 5- (3-chlorophenylamino) benzo [c] [2,6] naphthyridine-8-carboxylic acid (CX-4945), 4- (hydroxyimino) -cyclohexa-2,5- dien-1-ylidene (phenyl) ethanenitrile (4-AN) and (1,3,8-trihydroxy-6-methyl-anthraquinone) (emodin). Studies have shown that these compounds effectively inhibit the growth of *C. albicans* strains, causing morphological changes to weaken virulence and are effective at low doses, which shows them as promising antifungal agents.

Keywords: *Candida albicans*, protein kinase CK2, antifungal agents

## **TLC-kontaktowa bioautografia do oceny przeciwpłatkowej aktywności naturalnie występujących lotnych składników**

Katarzyna Paradowska<sup>1</sup>, Beata Polak<sup>2</sup>, Grażyna Ginalska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie,

<sup>2</sup> Zakład Chemii Fizycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Poszukiwania w naturze aktywnych biologicznie związków doprowadziły do stosowania olejków eterycznych (EOS) we wziewnej terapii przeciwgruźliczej. W celu oceny przeciwpłatkowej aktywności lotnych terpenów będących licznymi składnikami EOS wykorzystywano technikę TLC-kontaktowej bioautografii. Do eksperymentów wykorzystywano szybko rosnące szczepy *Myc. smegmatis* ATCC 19420 i 607. Jako metodę wizualizacji stosowano barwienie z resazuryną opierające się na reakcji utleniania-redukcji, która wiąże się ze zmianą niebieskiej barwy barwnika do różowej w obecności żywych bakterii. Limit detekcji (LOD) dla każdego testowanego związku był oznaczany jako najmniejsza ilość substancji widoczna jako niebieska plamka na różowym tle. Ethanol (EtOH) i izoniazyd (INH) były używane odpowiednio jako ujemna i dodatnia kontrola. LODs dla cytralu i tymolu wynosiły: 73 µg i 20 µg (na plamkę) dla obu testowanych szczepów prątkowych. Mentol nie wykazywał działania przeciwpłatkowego do stężenia 1 mg/plamkę. LOD dla INH wyznaczany dla szczepu *M. smegmatis* ATCC 607 wynosił 0,4 µg/plamkę i był dwukrotnie niższy niż dla szczepu ATCC 19420. EtOH używany jako rozpuszczalnik testowanych związków nie powodował efektu hamującego wzrost obu szczepów prątkowych.

Wnioski: Technika TLC-kontaktowej bioautografii jest szybką, wiarygodną i prostą metodą do wykrywania aktywności przeciwpłatkowej lotnych związków.

Słowa kluczowe: TLC bioautografia kontaktowa, aktywność przeciwpłatkowa, terpeny

### **TLC-contact bioautography for the evaluation of antimycobacterial activity of naturally occurring volatile constituents**

The search for active compounds from nature led to the use of essential oils (EOS) in anti-tuberculosis inhalation therapy. This study included the evaluation of antimycobacterial activity of volatile terpenes that are the abundant components of EOS with the use of TLC-contact bioautographic assay. The fast-growing *Myc. smegmatis* ATCC 19420 and 607 strains were used in the bioassays. The staining with resazurin, which relies on an oxidation-reduction to induce a blue to pink colour in the presence of viable bacteria, was used as bioautography visualization method. According to this method, the limit of detection (LOD) for each tested compound was determined as the lowest amount of substance that resulted in a blue spot against a pink background. Ethanol (EtOH) and isoniazid (INH) were used as negative and positive controls, respectively. LODs for citral and thymol were 73 µg and 20 µg (per spot), respectively, for both tested mycobacterial strains. Menthol (up to 1 mg per spot) did not exert antimycobacterial activity. LOD for INH designated for *Myc. smegmatis* ATCC 607 strain was 0,4 µg per spot (2-fold lower in comparison to determined for the ATCC 19420 strain). No inhibitory effect was observed in the presence of EtOH, which was used as a solvent used to dissolve each compound.

Conclusions: TLC-contact bioautographic technique was found to be reliable and simple to perform for the rapid detection of antimycobacterial activity of volatile constituents.

Keywords: TLC contact bioautography, antimycobacterial activity, terpenes

## **Metanogeneza naturalna lignitów występujących w złożach kopalni „Bełchatów” i „Turów”**

Anna Pytlak<sup>1</sup>, Anna Szafranek-Nakonieczna<sup>1</sup>, Weronika Goraj<sup>1</sup>, Adam Kubaczyński,  
Andrzej Górski, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin, e-mail: apytlak@kul.pl

Węgiel brunatny jest jednym z fundamentalnych surowców energetycznych Polski. Elektrownie spalające ten rodzaj paliwa odpowiedzialne są za produkcję ponad 30% energii elektrycznej (dane za rok 2015). Niestety spalanie węgla wiąże się z emisją dużej ilości zanieczyszczeń, m. in. w postaci pyłów, tlenków azotu i siarki, które wykazują szkodliwe działanie na zdrowie człowieka a także niekorzystnie wpływają na bilans radiacyjny atmosfery. Alternatywą wobec tradycyjnych metod jest wykorzystanie powstającego w złożach metanu. Celem prezentowanej pracy było określenie naturalnego potencjału metanogenicznego lignitów, występujących w złożach eksploatowanych przez kopalnie „Turów” i „Bełchatów”. Obecność biogenicznego metanu potwierdzono w obu złożach, przy czym w zdecydowanie większe tempo metanogenezy stwierdzono w odkrywce „Bełchatów”. Węgiel pozyskany z górnych partii pokładu lużyckiego tej kopalni charakteryzował się aktywnością na poziomie  $0.119 \text{ nM CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ doba}^{-1}$ . Wykazano także, że występująca w lignitach z kopalni „Bełchatów” społeczność mikroorganizmów wykazuje optimum w temperaturze  $30^\circ\text{C}$ . Występowanie naturalnej aktywności metanogenicznej daje szansę na biotechnologiczne wykorzystanie lignitów do produkcji metanu.

Słowa kluczowe: węgiel brunatny, lignit, metan, metanogeneza

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2015/17/B/NZ9/01662 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

### **Natural methanogenesis of lignites occurring in “Bełchatów and “Turów” coal mines**

Brown coal is one of Poland's most important energy resources. Power plants that burn this kind of fuel are responsible for producing more than 30% of electricity (data for 2015). Unfortunately coal burning is associated with the emission of high levels of pollution in the form of dusts, nitrogen and sulfur oxides, which have a detrimental effect on human health and additionally adversely affect the radiative balance of the atmosphere. An alternative to traditional methods is the use of the coalbed methane. The aim of the presented work was to determine the natural methanogenic potential of lignites found in deposits operated by "Turów" and "Bełchatów" mines. It has been shown that the natural potential for methane production occurs in both reservoirs, and is significantly higher in the Bełchatów mine. The coal obtained from the upper part of the Lusatian seam in the mine was characterized by activity at the level of  $0.119 \text{ nM CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ . It has also been shown that for microbial community in the lignite of the Bełchatów mine optimum temperature  $30^\circ\text{C}$ . The occurrence of natural methanogenic activity gives the opportunity for the biotechnological use of lignite for the production of methane.

Keywords: brown coal, lignite, methane, methanogenesis

This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2015/17/B/NZ9/01662.

## **Biologiczna stymulacja metanogenezy w polskich węglach brunatnych**

Anna Szafranek–Nakonieczna, Anna Pytlak, Adam Kubaczyński,  
Weronika Goraj, Andrzej Górski, Zofia Stępniewska

Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,  
ul. Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, e-mail: anna.szafranek@kul.lublin.pl

Biologiczna stymulacja metanogenezy jest procesem biotechnologicznym o dużym znaczeniu praktycznym, który znajduje zastosowanie m. in. w biogazowniach. W ostatnim dziesięcioleciu podjęto także próby zwiększenia odzyskiwania metanu z pokładów węgla. W przypadku polskiej gospodarki proces ten mógłby doprowadzić do zmniejszenia negatywnego oddziaływania na środowisko przez sektor energetyczny. W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki badań prowadzonych z wykorzystaniem węgla brunatnych i kamiennych, pochodzących od głównych dostawców surowców energetycznych w Polsce (PGE GiEK S.A. oraz JSW S.A.). Jako inokulat wykorzystano mikroorganizmy wyizolowane z osadów zbiornika hipertroficznego, na drodze seryjnych przeszczepień na pożywki zróżnicowane pod względem dostępnych źródeł węgla (w atmosferze CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, bez dodatku i z dodatkiem tryptonu i ekstraktu drożdży). Uzyskane wyniki wskazują, iż istnieje możliwość biologicznej stymulacji metanogenezy w polskich węglach kopalnych. Proces ten zachodzi z największą intensywnością w węglach brunatnych, szczególnie pochodzących z kopalni „Bełchatów” podczas gdy znacznie mniejszy zaobserwowano w materiale pochodzącym z kopalni „Turów”. Wśród izolatów najbardziej wydajne było konsorcjum mikroorganizmów wzrastające na pożywce zawierającej trypton/ekstrakt drożdży, w obecności CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>. Wydajność procesu sięgnęła maksymalnie 100 μM CH<sub>4</sub> kg ś.m.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

Słowa kluczowe: metan, metanogeneza, bioaugmentacja

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2015/17/B/NZ9/01662 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

### **Biological stimulation of methanogenesis in Polish lignites**

Biological stimulation of methanogenesis is a biotechnological process of great practical relevance, which is used inter alia in biogas plants. In the last decade, attempts have also been made to increase the amount of methane recovered from coal seams. In the case of the Polish economy this process could lead to a reduction of the negative impact on the environment by the energy sector. The work presents results of the research carried out using lignite and hard coals originating from major suppliers of energy raw materials in Poland (PGE GiEK S.A. and JSW S.A.). Microorganisms isolated from the hypertrophic reservoir sediment by means of serial transplantation on media with differentiated availability of carbon sources (in atmosphere CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, with and without supplementation with tryptone/yeast extract) were used as inoculants. The obtained results indicate that there is a possibility of stimulating methanogenesis in Polish fossil coal. This process is most intensive in lignite, especially from the “Bełchatów” mine while significantly lower in coal from “Turoszów” mine. Among the isolates, the most effective was a consortium of microorganisms growing on media with tryptone/yeast extract and in atmosphere of CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>. Process efficiency reached maximally 100 μM CH<sub>4</sub> kg f.m.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

Keywords: methane, methanogenesis, bioaugmentation

This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2015/17/B/NZ9/01662.

## **Złoża węgla jako środowisko życia mikroorganizmów**

Anna Pytlak, Anna Szafranek-Nakonieczna, Agnieszka Wolińska, Artur Banach,  
Andrzej Górski, Adam Kubaczyński, Zofia Stępniewska

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin, e-mail: apytlak@kul.pl

Mikrobiologia ziół węgla stała się w ostatnich latach tematem bardzo ważnym, przede wszystkim ze względu na potrzebę opracowania technologii zgazowania zdeponowanej tam materii organicznej do metanu, który jest bardziej niż węgiel pożądanym źródłem energii ze względu na wysoką energię spalania i w porównaniu z węglem generującym mniej zanieczyszczeń. Efektywność procesu stymulacji biologicznej zależy od warunków jakie panują w złożu a w szczególności dostępności biogennych form azotu i fosforu oraz mikro- i makroelementów (NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, Na, Mg, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo). W bieżącej pracy przedstawiono porównanie dostępności składników odżywczych w węglach i wodach formacyjnych, pochodzących z węgli kamiennych Górnośląskiego Zagłębia Węglowego a także z kopalni węgla brunatnego „Bełchatów” i „Turów” z podłożem stosowanym do hodowli konsorcjów metanogenicznych. Uzyskane wyniki wskazują na to, że niezależnie od stadium diagenety, w złożach występuje deficyt dostępnego dla mikroorganizmów azotu i fosforu natomiast większość pozostałych analizowanych składników odżywczych obecna jest w nadmiarze. Wpływ stadium transformacji węgla uwidocznili się jedynie w przypadku Fe i K. W ekstraktach węgli brunatnych, Fe stwierdzono w ilościach śladowych natomiast w węglach kamiennych było wielokrotnie wyższe w porównaniu do wartości referencyjnej. Zależność w przypadku K była odwrotna. Po powyższej analizie, do biologicznej stymulacji metanogenezy w węglach korzystne jest wzbogacenie materiału w biodostępne formy N i P oraz grupy mikroorganizmów, wykazujące tolerancję względem wysokich stężeń metali.

Słowa klucze: węgiel kamienny, węgiel brunatny, biogeny, mikroelementy, makroelementy

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2015/17/B/NZ9/01662 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## **Coal bearing formations as a habitat for microorganisms**

Microbiology of coal deposits has become a very important issue, primarily due to the need to develop gasification technology of the deposited organic matter into methane, which is a valuable source of energy. The effectiveness of biological stimulation of the process depends on conditions occurring in the bed and, in particular, on the availability of biogenic forms of nitrogen, phosphorus and micro- and macronutrients (NH<sub>4</sub>, PO<sub>4</sub>, Na, Mg, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo). The current study presents a comparison of accessibility of the aforementioned substances in coals and formation waters originating from the Upper Silesian Coal Basins (hard coals) as well as lignites mines "Bełchatów" and "Turów" with medium used to culture and enrich methanogens in laboratory conditions. The results show that irrespective of the stage of diagenesis, there are deficiencies of bioavailable nitrogen and phosphorus in the beds, while most of the remaining elements were present in the excess. The influence of the carbon transformation stage was evident only in the case of Fe and K. In the brown coal extracts, Fe was present in trace amounts whereas in hard coal it was several times higher than the reference value. In a case of K the dependence was opposite. In the view of the above, to stimulate biological methanogenesis in coals it is beneficial to enrich the geological environment into bioavailable forms N and P and microorganisms that tolerate high concentrations of metals.

Keywords: hard coal, lignite, biogenic compounds, microelements, macroelements

This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2015/17/B/NZ9/01662.

## **Analiza metagenomiczna społeczności metanogenicznej wyizolowanej z osadu dennego zbiornika zapadliskowego**

Anna Szafranek–Nakonieczna, Anna Pytlak, Adam Kubaczyński,  
Weronika Goraj, Agnieszka Kuźniar, Zofia Sępniewska

Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,  
ul. Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, e-mail: anna.szafranek@kul.lublin.pl

Metan jest jednym z najbardziej pożądaných źródeł energii, znajdującym odbiorców zarówno przemysłowych jak i indywidualnych. Spalanie metanu generuje znacznie mniej zanieczyszczeń niż paliw konwencjonalnych takich jak węgiel czy ropa naftowa. W związku z rosnącym zapotrzebowaniem na energię, coraz większe znaczenie zyskuje metan produkowany na drodze fermentacji materii organicznej zawartej w odpadach komunalnych oraz rolniczych. Duże zainteresowanie zyskuje również możliwość zgazowania przetworzonej materii organicznej w pokładach węgla. W celu stymulacji procesu metanogenezy w węglach, poszukuje się efektywnych konsorcjów mikroorganizmów zdolnych do degradacji makromolekuł węgla. Jednym z najbardziej aktywnych metanogenicznie środowisk są osady dennie jezior hipertroficzných. W bieżącej pracy prezentujemy analizę metagenomiczną społeczności mikroorganizmów wyizolowanej z osadów zbiornika zapadliskowego Szczecin. Uzyskane wyniki wskazują, że 4% zidentyfikowanych OTU stanowią metanogeny z rodzaju *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* i *Methanosarcina*, wykorzystujące CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, mrówczan bądź alkohole jako źródła węgla i energii. Społeczność była bardzo różnicowana w odniesieniu do *Bacteria*. Wśród zidentyfikowanych 233 rodzajów, stwierdzono obecność mikroorganizmów współpracujących z metanogenami, które przeprowadzają rozkład materii organicznej do prostých substratów takich jak: CO<sub>2</sub>, octan, mrówczan. Przeprowadzone analizy wskazują na wysoki potencjał aplikacyjny wyizolowanego konsorcjum.

Słowa klucze: metan, metanogeneza, osady dennie

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2015/17/B/NZ9/01662 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## **Metagenomic analysis of the metanogenic consortium isolated from bottom sediments of mining subsidence lake**

Methane is one of the most sought after sources of energy for both industrial and individual consumers. The burning of methane generates much less pollution than conventional fuels such as coal or oil. Due to increasing demand for energy, methane produced by the fermentation of organic matter present in municipal and agricultural wastes is gaining importance. It was also suggested that there is a possibility of gasification of organic matter deposited in coal beds. In order to stimulate methanogenesis in coal, efficient consortia of microorganisms capable of degradation of carbon macromolecules are sought. One of the most active methanogenic environments are bottom sediments of hypertrophic lakes. In the current work we present metagenomic analysis of microbial community isolated from bottom sediments of the „Szczecin” reservoir. The results show methanogens from genus *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* and *Methanosarcina* account for 4% of identified OUT. These *Archaea* are able to use CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>, acetate or formate as a source of carbon and energy. The community was also very diverse with respect to *Bacteria*. Among identified 233 genera, the presence of microorganisms cooperating with methanogens and decomposing organic matter into simple substrates: CO<sub>2</sub>, acetate, formate was stated. The analyzes indicate the high application potential of the isolated consortium.

Keywords: methane, methanogenesis, lake sediments

This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2015/17/B/NZ9/01662.

## Potencjał biotechnologiczny społeczności metanotrofów do produkcji poli(3-hydroksymaślanu)

Anna Pytlak, Adam Kubaczyński, Agnieszka Kuźniar, Zofia Stępniewska

Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,  
ul. Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, e-mail: apytlak@kul.pl

Polihydroksyalkanolany (PHA), w tym (PHB) to substancje syntetyzowane i magazynowane w sposób naturalny przez niektóre bakterie i rośliny w odpowiedzi na stres środowiskowy, wynikający np. z niedoboru podstawowych substancji odżywczych. W komórkach organizmów poddanych stresowi polimer ten pełni rolę substancji zapasowej i regulatora wewnątrzkomórkowego potencjału oksydoredukcyjnego. Ze względu na zbliżone właściwości związku te są coraz częściej brane pod uwagę jako alternatywa wobec syntetycznych tworzyw sztucznych. Badania prowadzone z wykorzystaniem czystych kultur wykazały iż zdolność do syntezy PHB rozpowszechniona jest wśród bakterii metanotroficznych należących do rodziny *Methylocystaceae*, wykorzystujących do asymilacji węgla szlak serynowy. Jednocześnie wiele wskazuje na to, iż wzrost tych mikroorganizmów stymulowany jest przez bioróżnorodność. Dlatego też w bieżącej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących określenia biotechnologicznego potencjału konsorcjum mikroorganizmów, wyizolowanych z różnych środowisk (pokłady węgla, soli). Analizowano dynamikę przyrostu biomasy (OD), strukturę społeczności (FISH) oraz zawartość polimeru w komórkach w funkcji czasu, w warunkach stresu fizjologicznego, polegającego na ograniczonej dostępności azotu. Największym przyrostem biomasy i jednocześnie efektywnością w produkcji PHB (do 808 mg dm<sup>-3</sup>) charakteryzowało się konsorcjum się wyizolowane z otoczenia pokładów węgla kamiennego „Zofiówka”, w którym *Methylocystaceae* stanowiły 48% komórek obecnych mikroorganizmów.

Słowa klucze: metan, metanotrofy, PHB

### The biotechnological potential of the methanotrophs community for the production of poly(3-hydroxybutyrate)

Polyhydroxyalkylates (PHA), including (PHB) are substances that are naturally synthesized and stored by some bacteria and plants in response to environmental stress, resulting from, for example, a deficiency in basic nutrients. In stressed cells, this polymer acts as a storage material and as a regulator of the intracellular oxidative potential. Because of their similar properties, they are increasingly being considered as an alternative to synthetic plastics. Pure culture research has shown that PHB synthesis is widespread among methanotrophic bacteria belonging to the *Methylocystaceae* family, which assimilate carbon by the serine pathway. Recently, it was suggested that growth of these microorganisms is stimulated by biodiversity. Therefore, the current paper presents the results of research on the biotechnological potential of a consortium of microorganisms isolated from different environments (carbon and salt deposits). The dynamics of biomass (OD), community structure (FISH), and polymer content in cells were analyzed as a function of time, under physiological stress conditions resulting from limited nitrogen availability. The largest increase in biomass and at the same time efficiency in PHB production (up to 808 mg dm<sup>-3</sup>) was found in the consortium isolated from "Zofiówka" coal mine, in which *Methylocystaceae* constituted 48% of cells.

Keywords: methane, methanotroph, PHB



## Potencjał biofiltracyjny utworów towarzyszących pokładom węgla brunatnego

Anna Pytlak, Anna Szafranek-Nakonieczna, Weronika Goraj, Monika Chruścińska,  
Marzena Gregorek, Adam Kubaczyński, Andrzej Górski, Zofia Stępniewska

Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Instytut Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,  
ul. Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, e-mail: apytlak@kul.pl

Metan, pomimo niskiego stężenia w powietrzu atmosferycznym jest drugim po ditlenku węgla najważniejszym gazem szklarniowym. Średnie globalne atmosferyczne stężenie tego gazu (1834 ppb w 2015 roku) ponad dwukrotnie przewyższa stężenia odpowiadające czasom preindustrialnym. Przyczyną tego zjawiska są wzmożone emisje ze źródeł antropogenicznych, w tym ze składowisk odpadów komunalnych. Energetyczne wykorzystanie biogazu, powstającego na wysypiskach nie zawsze jest możliwe. Często gaz powstający w skutek rozkładu organicznej frakcji odpadów jest uwalniany bezpośrednio do atmosfery, gdyż jego utylizacja wymaga kosztownych technologii. Rozwiązaniem alternatywnym może być zastosowanie nadkładów wykazujących zdolność do biofiltracji  $\text{CH}_4$ . W bieżącej pracy przedstawiamy perspektywy wykorzystania do tego celu utworów stanowiących odpad przy eksploatacji węgla brunatnych w kopalniach „Bełchatów” oraz „Turów”. Analizom poddano próbki pochodzące z reprezentatywnych warstw geologicznych stropu oraz spągu, wybieranych podczas prac wydobywczych. W warunkach laboratoryjnej stymulacji (10%  $\text{CH}_4$ , 20°C), aktywność metanotroficzna występowała w utworach pochodzących z obu basenów sedymentacyjnych, przy czym największą (do 3  $\mu\text{M g}^{-1} \text{doba}^{-1}$ ) charakteryzowały się warstwy ilów. Wzrost wilgotności (do 100%) wyraźnie stymulował proces utleniania metanu w porównaniu do warunków naturalnych. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość biotechnologicznego zastosowania odpadów kopalnianych do filtracji metanu.

Słowa klucze: metan, metanotrofy, skała przywęglowa, biofiltracja, składowanie odpadów

### Biofiltration potential of the geological materials accompanying brown coal deposits

Methane, despite its low concentration in atmospheric air, is second after  $\text{CO}_2$  most important greenhouse gas. The average global atmospheric concentration of this gas (1834 ppb in 2015) is more than twice that of preindustrial era. The cause of this phenomenon is increased emission from anthropogenic sources including landfills of municipal waste. The use of biogas generated by landfill is not always feasible. Often, the gas generated by the organic decomposition of waste is released directly into the atmosphere because its utilization requires costly technology. An alternative may be the use of sealings with  $\text{CH}_4$  biofiltration potential. In the current paper we present prospects for the use of waste generated during exploitation of brown coal in the mines "Bełchatów" and "Turów". The samples were taken from representative geological layers of the ceiling and the bottom of the seams, being extracted during coal excavation. Under laboratory conditions (10%  $\text{CH}_4$ , 20°C), methanotrophic activity was stated in the samples from both sedimentation basins, with the highest values (up to 3  $\mu\text{M g}^{-1} \text{day}^{-1}$ ) found in clays. Comparing to natural conditions, the increase in moisture (up to 100%) clearly stimulated the oxidation of methane. The results obtained indicate the possibility of biotechnological application of the coal mine waste for methane biofiltration.

Key words: methane, methanotrophs, coalbed rocks, biofiltration, waste disposal

## **Synteza osmolitów przez społeczność metanotroficzną**

Agnieszka Kuźniar, Zofia Stępniewska, Natalia Łopacka, Wojciech Berus

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,  
Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin

Istotną cechą adaptacji mikroorganizmów jest ich plastyczność metabolizmu. W zmiennych warunkach otoczenia mikroorganizmy uruchamiają system ochronny. Jednym z nich jest osmoregulacja czyli utrzymywanie równowagi wodno-elektrolitowej komórki podczas wzrostu ciśnienia osmotycznego środowiska. U metanotrofów objawia się to gromadzeniem osmolitów w cytoplazmie.

Celem pracy było określenie poziomu syntezy osmolitów (glicyny, proliny i kwasu glutaminowego) przez konsorcjum metanotroficzne s108 w warunkach stresu osmotycznego wywołanego obecnością 2% NaCl. Medium hodowlane stanowiło NMS z różnym stężeniem KNO<sub>3</sub> i L-asparaginanu. Analizy osmolitów dokonano z wykorzystaniem techniki GC-MS, po uprzedniej derywatywacji analitów.

Z uwagi na fakt, iż mikroorganizmy mają tendencję do gromadzenia wielu różnych osmolitów detekcja z użyciem technik GC-MS wykazała obecność glicyny, lizyny oraz kwasu glutaminowego. Stężenie glicyny pozostawało na poziomie od 6,75 (dla 0,5 mM KNO<sub>3</sub>) do 63,75 ppm (dla 50 mM L-asparaginanu). Koncentrację proliny określono na poziomie od 6,45 (dla 2 mM KNO<sub>3</sub>) do 36,45 ppm (dla 50 mM L-asparaginanu). Najwyższe stężenie kwasu glutaminowego (95,55 ppm) odnotowano w kombinacji z dodatkiem 50 mM L-asparaginanu, natomiast najniższe (2,9 ppm) dla kombinacji 5 mM KNO<sub>3</sub>.

Słowa kluczowe: bakterie metanotroficzne, osmolyty, osmoregulacja

## **Synthesis of osmolytes by the methanotrophic community**

An important feature adaptation of microorganisms is their metabolic plasticity. In changing ambient conditions, microorganisms activate the protective system. One of them is osmoregulation, that is, maintaining the water electrolyte balance of the cell during the increase of the osmotic pressure of the environment. In methanotrophic bacteria revealed that the accumulation of osmolytes in the cytoplasm.

The aim of the study was to determine the level of osmolytes synthesis (glycine, proline and glutamic acid) by methanotrophic consortium s108 under conditions of osmotic stress induced by 2% NaCl. The culture medium was NMS with different concentrations of KNO<sub>3</sub> and L-asparaginan. The osmolyte analyzes were made using the GC-MS technique, after prior derivatisation of analytis.

Due to the fact that the microorganisms tend to accumulate a variety of osmolytes, detection using GC-MS technique showed the presence of glycine, lysine and glutamic acid. The glycine concentration remained at 6.75 (for 0.5 mM KNO<sub>3</sub>) to 63.75 ppm (for 50 mM L-asparaginate). Proline concentration was determined at 6.45 (for 2 mM KNO<sub>3</sub>) to 36.45 ppm (for 50 mM L-asparaginate). The highest concentration of glutamic acid (95.55 ppm) was recorded in combination with the addition of 50 mM L-asparaginanu, while the lowest level 2.9 ppm for a combination of 5 mM KNO<sub>3</sub>.

Keywords: methanotrophic bacteria, osmolytes, osmoregulation

## Udział mikroorganizmów towarzyszących *Azolla filiculoides* L. w usuwaniu jonów ołowiu (II) z wód

Artur Banach<sup>1</sup>, Weronika Goraj<sup>1</sup>, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>,  
Aleksandra Piskorska<sup>1</sup>, Aleksandra Płusa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
Konstantynów 11, 20-708, Lublin, abanach@kul.pl

Celem pracy było określenie roli mikroorganizmów wyizolowanych z paproci wodnej *Azolla filiculoides* L. w procesie bioakumulacji jonów Pb(II) przez paproć.

Badania prowadzono w 3 etapach wykorzystując szczepy mikroorganizmów endofitycznych z rodzajów *Pseudomonas*, *Micrococcus* i *Acinetobacter* oraz epifitycznych z rodzajów *Microbacterium*, *Achromobacter* i *Bacillus*. Określona została tolerancja bakterii na jony Pb(II) (stężenia 0-1000 mg/l) na podłożu agar zwykły. Bioremediację ołowiu dla najwyższych tolerowanych przez bakterie dawek metalu wykonano na podłożu bulion odżywczy. Ostatni etap obejmował bioaugmentację podłoża hodowlanego *A. filiculoides* przez testowane mikroorganizmy i monitorowanie pobierania Pb(II) przez paproć.

Stwierdzono tolerancję mikroorganizmów na maksymalną zastosowaną dawkę ołowiu, której towarzyszyła akumulacja sięgająca 65-107 mg Pb(II)/g biomasy epifitów oraz 76-169 mg Pb(II)/g biomasy endofitów. Etap bioaugmentacji wykazał stymulację procesu fitoremediacji przy zastosowaniu *Micrococcus* sp. (38,8 mg Pb(II)/g ś.m.), *Acinetobacter* sp. (29,6 mg Pb(II)/g ś.m.), *Bacillus* sp. (31,8 mg Pb(II)/g ś.m.), *Achromobacter* sp. (34,7 mg Pb(II)/g ś.m.) oraz *Microbacterium* sp. (27 mg Pb(II)/g ś.m.). Jedynie obecność *Pseudomonas* sp. nie miała istotnego wpływu na akumulację Pb(II) przez *A. filiculoides* (19,6 mg Pb(II)/g ś.m. w stosunku do 20,2 mg Pb(II)/g ś.m. w kontroli bez bakterii).

Słowa klucze: bioaugmentacja, fitoremediacja, metale ciężkie, mikroorganizmy endofityczne, mikroorganizmy epifityczne

### Participation of microorganisms associated with *Azolla filiculoides* L. in removing lead (II) ions from waters

The aim of the work was determination the role of microorganisms isolated form aquatic fern *Azolla filiculoides* L. during bioaccumulation of Pb(II) by the fern.

The study was conducted in 3 stages using strains of endophytic microorganisms from *Pseudomonas*, *Micrococcus* and *Acinetobacter* genera and epiphytic microorganisms from *Microbacterium*, *Achromobacter* and *Bacillus* genera. The bacteria tolerance to Pb(II) ions (concentrations of 0-1000 mg/l) was determined on a standard agar. Bioremediation of lead for the highest tolerated metal dosages was done on a nutrient broth. The last stage was bioaugmentation of growing medium of *A. filiculoides* with tested microorganisms and the monitoring Pb(II) uptake by the fern.

The tolerance of microorganisms on a maximal applied dose of lead was stated which was accompanied by the accumulation reaching 65-107 mg Pb(II)/g of epiphytes biomass and 76-169 mg Pb(II)/g of endophytes biomass. Bioaugmentation stage indicated the stimulation of the phytoremediation process using *Micrococcus* sp. (38.8 mg Pb(II)/g f.w.), *Acinetobacter* sp. (29.6 mg Pb(II)/g f.w.), *Bacillus* sp. (31.8 mg Pb(II)/g f.w.), *Achromobacter* sp. (34.7 mg Pb(II)/g f.w.) and *Microbacterium* sp. (27 mg Pb(II)/g f.w.). Only *Pseudomonas* sp. has no significant effect on Pb(II) accumulation by *A. filiculoides* (19.6 mg Pb(II)/g f.w. vs 20.2 mg Pb(II)/g f.w. in no bacterial enriched control).

Keywords: bioaugmentation, phytoremediation, heavy metals, endophytic microorganisms, epiphytic microorganisms

## **Tworzenie potencjałów elektrycznych w glebach poddanych trwałemu zalaniu**

Artur Banach<sup>1</sup>, Agnieszka Wolińska<sup>1</sup>, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>, Jacek Daniluk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
Konstantynów 11, 20-708, Lublin, abanach@kul.pl

Celem pracy było wykorzystanie gleby poddanej trwałemu nawodnieniu, pochodzącej z antropogenicznych zbiorników Szczecin i Nadrybie (Polesie Lubelskie) jako zredukowanego podłoża do generacji potencjałów elektrycznych. Doświadczenia prowadzono w cylindrach szklanych o pojemności 1 L wypełnionymi 1,8 kg materiału glebowego. Zastosowano następujące dodatki organiczne: 1% r-r glukozy, 1% r-r kwasu octowego, 50% r-r serwatki. Różnicę potencjałów uzyskano instalując elektrody platynowe przy dnie oraz powierzchni cylindra. Wyznaczono: napięcie i natężenie prądu w bioogniwach, potencjał oksydoredukcyjny (Eh), odczyn (pH), poziom węgla (TC) i związków biogennych (N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub>, P-PO<sub>4</sub>) oraz aktywność dehydrogenazową (DHA) w trakcie trwania badań (46 dni, 20°C).

Badane materiały wykazały zróżnicowanie pod względem dostępności związków biogennych: poziom węgla ogólnego oraz azotanów (V) i formy amonowej azotu były wyższe w przypadku osadów ze zbiornika Nadrybie, który cechowała również wyższa wilgotność i aktywność DHA. Parametry te ulegały wahaniom w trakcie doświadczenia.

Zastosowane dodatki organiczne były w różnym stopniu zużywane przez mikroorganizmy. Glukoza i serwatka generowały krótkotrwałe potencjały rzędu 400-550 mV. Octany wykazywały najstabilniejsze potencjały elektryczne sięgające >550 mV, utrzymujące się przez cały czas trwania doświadczenia. Ze względu na stabilność wytworzonego prądu osad ze zbiornika Nadrybie przedstawiał korzystniejsze możliwości zastosowań jako wypełnienie ogniwa niż ze zbiornika Szczecin.

Słowa klucze: aktywność mikrobiologiczna, mikrobiologiczne ogniwa paliwowe, osady denne, procesy redoks

### **Generation of electric potentials in permanently flooded soils**

The aim of the work was the application of permanently flooded soils originating from anthropogenic lakes Szczecin and Nadrybie (Polesie Lubelskie) as a reduced substrate for the generation of electric potentials. Experiments were conducted in 1 L glass cylinders filled with 1.8 kg of soil material. The following organic additives were used: 1% glucose solution, 1% acetate solution and 50% whey suspension. The potentials difference were made by installing platinum electrodes on the bottom and top of the cylinder. The voltage and current, redox potential (Eh), reaction (pH), carbon (TC) and nutrient (N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub>, P-PO<sub>4</sub>) contents as well as dehydrogenase activity (DHA) were estimated during 46 day experiment (20°C).

The studied material showed differentiation in the availability of nutrients: TC, N-NO<sub>3</sub> and nitrogen-NH<sub>4</sub> form were higher in sediments originating from Nadrybie Lake. In addition, there were higher moisture and DHA activity. These parameters changed over the experimental time.

The applied organic additives were differently used by microorganisms. Glucose and whey generated short-lived potential reaching 400-550 mV. Acetate caused the most stable electric potentials reaching >550 mV persist throughout the study. Due to the stability of the generated current, the sediment from the Nadrybie Lake presented better application possibilities as the filling of the biocell than from the Szczecin reservoir.

Keywords: bottom sediments, microbial activity, microbial fuel cells, redox processes

## Struktura mikroorganizmów zasiedlających czarną ziemię zanieczyszczoną substancjami ropopochodnymi

Agnieszka Wolińska\*, Agnieszka Kuźniar, Weronika Goraj,  
Natalia Jastrzębska, Zofia Stępniewska

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin, e-mail\*: awolin@kul.pl

Celem pracy było przedstawienie zmian w strukturze mikroorganizmów pod wpływem oddziaływania substancji ropopochodnych. Postawione hipotezy badawcze zakładały, że: (1) struktura mikroorganizmów warunkowana jest rodzajem substancji ropopochodnych oraz czasem inkubacji, (2) gleby zasiedlane są przez mikroflorę autochtoniczną zdolną do rozkładu ropopochodnych. Materiał badawczy stanowiła powierzchniowa warstwa (0-20 cm) czarnej ziemi (FAO: *Mollic Gleysol*) pobrana w miejscowości Kosiorów na Lubelszczyźnie. Substancjami ropopochodnymi były: benzyna bezołowiowa 95-oktanowa oraz olej napędowy (diesel) wprowadzone w dawkach: 0, 5, 10, 15 g/10 g gleby. Czas inkubacji wynosił 42 dni (20°C, warunki tlenowe). W dniach: 7, 21 i 42 wyznaczono poziom aktywności dehydrogenazowej, liczebność bakterii heterotroficznych, dokonano izolacji DNA, przeprowadzono reakcję PCR (16S rRNA 27f, 518r) oraz zidentyfikowano mikroorganizmy autochtoniczne. Uzyskane wyniki potwierdziły hipotezy badawcze. Wykazano zmienność w strukturze mikroorganizmów warunkowaną rodzajem substancji ropopochodnej. Molekularna identyfikacja bakterii autochtonicznych pozwoliła na ich klasyfikację do rodzajów: *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Paenibacillus* i *Pseudomonas*. Porównując badane ropopochodne stwierdzono, że benzyna wykazuje bardziej szkodliwe działanie na mikroflorę glebową aniżeli olej napędowy, co potwierdziły wyniki parametrów biologicznych (aktywności dehydrogenazowej i liczebności mikroorganizmów).

Słowa kluczowe: benzyna, diesel, mikroorganizmy, czarna ziemia

### The structure of microorganisms inhabiting *Mollic Gleysol* contaminated with petroleum substances

The aim of the paper was to investigate the changes in the soil microorganisms structure as an effect of petroleum substances contamination. The research hypotheses assumed that: (1) the microbial structure are determined by the type of petroleum substance and an incubation time, (2) soils are inhabited by autochthonic microflora capable for petroleum substances degradation. The surface layer (0-20 cm) of *Mollic Gleysol* taken from Kosiorów village (Lubelskie Province) was investigated. Petroleum substances were as follows: unleaded gasoline 95-octane and diesel applied in doses: 0, 5, 10, 15 g/10 g soil. The time of experiment lasted 42 days (20°C, aerated conditions). In days: 7, 21 and 42 the following analyses were performed: dehydrogenase activity, heterotrophic bacteria abundance, DNA extraction, PCR (16S rRNA 27f, 518r) and identification of autochthonic microorganisms. Obtained results confirmed our hypotheses. Changeability of microorganisms structure as an effect of petroleum substance type was revealed. Molecular identification of autochthonic bacteria allowed them to be classified into the following genera: *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Paenibacillus* and *Pseudomonas*. Comparing petroleum-based test it was found that gasoline has more harmful effect on soil microflora than diesel, as evidenced by the lower value of biological indicators (dehydrogenase activity, microorganisms abundance).

Keywords: petrol, diesel, microorganisms, *Mollic Gleysol*

### **Aktywność dehydrogenazowa oraz liczebności bakterii kopio- i oligotroficznych wskaźnikiem wrażliwości na rolnicze użytkowanie gleb\***

Agnieszka Wolińska<sup>1</sup>, Agata Goryluk-Salmonowicz<sup>2</sup>, Hanna Rekosz-Burlaga<sup>2</sup>,  
Mieczysław Błaszczyk<sup>2</sup>, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin, e-mail\*: awolin@kul.pl

<sup>2</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów,  
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Celem pracy było określenie wpływu rolniczego użytkowania gleb na liczebności bakterii kopiotroficznych i oligotroficznych oraz na ich aktywność dehydrogenazową. Hipoteza badawcza zakładała bowiem, że wspomniane parametry biologiczne mogą stanowić indikator wrażliwości gleb na zabiegi uprawowe. Przeanalizowano cztery typy gleb rolniczo użytkowanych (uprawa owsa) oraz odpowiadające im te same typy gleb kontrolnych (nieużytkowanych rolniczo). Gleby z poziomu powierzchniowego (0-20 cm) pobierano zgodnie z normą PN-R-04031:1997. W warunkach laboratoryjnych materiał glebowy przesiano przez sita (2 mm) i poddano analizom obejmującym: oznaczenie wartości pH (potencjometrycznie, miernik Hach Lange), TOC (analyzer Shimadzu SSM 500), liczebności bakterii kopio- i oligotrofów (metoda płytkowa Kocha na agarze odżywczym [kopiotrofy] oraz na agarze z bulionem 1000-krotnie rozcieńczonym [oligotrofy]), oraz aktywności dehydrogenazowej (test TTC). Wykazano, że zabiegi rolnicze przyczyniają się do istotnego spadku pH gleb i ich zubożenia w TOC. Niższy odczyn wraz z niższą zawartością węgla organicznego w glebach rolniczych skutkowały spadkiem liczebności kopio- i oligotrofów w porównaniu do gleb kontrolnych. Analogiczny trend odnotowano w stosunku do aktywności dehydrogenazowej. Wyznaczony stosunek oligotrofów do kopiotrofów (O:K), stanowiący miarę równowagi biologicznej gleb wahał się w zakresie 0,81-1,53 oraz 1,02-2,40, odpowiednio dla gleb rolniczych i kontrolnych.

Słowa klucze: gleby rolnicze, liczebność mikroorganizmów, aktywność dehydrogenazowa, odczyn

\*Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2013/09/D/NZ9/02482 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

### **The structure of microorganisms inhabiting *Mollic Gleysol* contaminated with petroleum substances**

The aim of the study was to determine an impact of agricultural soil usage on abundances of copiotrophic and oligotrophic bacteria and their dehydrogenase activity. Scientific hypothesis assumed that mentioned biological parameters could be an indicator of soil sensitivity on agricultural practices. Four types of agricultural soils (oat crops) and the same types of control soils (not agriculturally used) were analyzed. Soils from the surface layers (0-20 cm) were taken according to PN-R-04031:1997. Under lab conditions the soil material was sieved through sieves (2 mm) and subjected to analysis comprising: pH (potentiometric, Hach Lange), TOC (Shimadzu SSM 500), abundances of copiotrophic and oligotrophic bacteria (Koch plate method on nutritive agar [copiotrophs] and broth agar 1000-fold diluted [oligotrophs]), and dehydrogenase activity (TTC test). It has been shown that agricultural practices contribute to a significant decrease in soil pH and TOC depletion. Lower pH values and lower TOC content in arable soils resulted in decrease in the numbers of copio- and oligotrophic bacteria in comparison with control soils. Analogous trend was observed in relation to dehydrogenase activity. Calculated ratio of oligotrophs to copiotrophs (O:C) which is a measure of biological soil balance ranged from 0.81 to 1.53 and from 1.02 to 2.40 for agricultural and control soils, respectively.

Keywords: arable soils, microorganisms abundance, dehydrogenase activity, acidity

\*This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2013/09/D/NZ9/02482.

## **Biomasa mikroorganizmów i zawartość DNA w wybranych glebach pływych Lubelszczyzny\***

Agnieszka Wolińska<sup>1</sup>, Anna Szafranek-Nakonieczna<sup>1</sup>, Urszula Zielenkiewicz<sup>2</sup>,  
Mieczysław Błaszczak<sup>3</sup>, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin, e-mail\*: awolin@kul.pl

<sup>2</sup> Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Zakład Biochemii Drobnoustrojów, ul. Pawińskiego 5a, 02-206 Warszawa

<sup>3</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów,  
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Oznaczanie biomasy mikroorganizmów, jako czułego wskaźnika świadczącego o biologicznej degradacji gleb jest rekomendowane przez 7 krajów UE (m.in. Niemcy, Holandię, Szwajcarię, Austrię). Dodatkowo wraz z rozwojem technik biologii molekularnej na popularności zyskuje także analiza zawartości DNA glebowego. Stąd celem badań było określenie wpływu rolniczego użytkowania gleb na poziom biomasy mikroorganizmów i zawartości glebowego DNA. Materiał badawczy stanowiły próby dwóch typów gleb (pływych spiaszczonych i pływych zerodowanych) pobrane z warstwy 0-20 cm, zgodnie z normą PN-R-04031:1997. Biomagę wyznaczono metodą fumigacji chloroformowej wg normy PN-ISO 14240-2 (CP-380 Varian). Izolacji DNA dokonano metodą ekstrakcji chloroformowej z oczyszczaniem izolatu w gradiencie CsCl, zaś jego stężenie i czystość wyznaczono spektrofotometrycznie (ND-10 NanoDrop). Wykazano, że zabiegi rolnicze w stosunku do gleb nieuprawianych powodują: (1) spadek biomasy mikroorganizmów o 31-81% w glebach pływych spiaszczonych oraz o 14-35% w glebach pływych zerodowanych, (2) spadek ilości DNA o 52-83% w glebach pływych spiaszczonych oraz do 62% w glebach pływych zerodowanych. Uzyskane wyniki wskazują na fakt, że rolnicze gleby płowe spiaszczone są bardziej podatne na degradację biologiczną aniżeli gleby płowe zdegradowane.

Słowa klucze: gleby rolnicze, biomasa mikroorganizmów, stężenie DNA, degradacja biologiczna

\*Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2013/09/D/NZ9/02482 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## **The structure of microorganisms inhabiting *Mollic Gleysol* contaminated with petroleum substances**

Determination of microbial biomass as a sensitive indicator of biological degradation is recommended by 7 EU countries (i.a. Germany, Netherlands, Switzerland, Austria). Additionally, with the development of molecular biology techniques, soil DNA content is also gaining ground. Hence, the purpose of the study was to determine the impact of agricultural land use on microbial biomass and DNA content. Investigated material consisted of the two soil types (*Albic Luvisols* and *Haplic Luvisols*) taken from 0-20 cm layers according to standard PN-R-04031:1997. Microbial biomass was determined by chloroform fumigation technique according to PN-ISO 14240-2 (CP-380 Varian). DNA isolation was performed by chloroform extraction with CsCl gradient purification whilst concentration and purity were determined spectrophotometrically (ND-10 NanoDrop). It has been shown that agricultural practices versus non-cultivated soils resulted in: (1) decrease of microbial biomass by 31-81% in *Albic Luvisols* and 14-35% in *Haplic Luvisols*, (2) decrease of DNA content by 52-83% in *Albic Luvisols* and up to 62% in *Haplic Luvisols*. Obtained results indicate that agricultural exploited *Albic Luvisols* are more susceptible on biological degradation than *Haplic Luvisols*.

Keywords: arable soils, microbial biomass, DNA concentration, biological degradation

\*This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2013/09/D/NZ9/02482.

## Potencjał metanogeniczny mikroorganizmów zasiedlających osady organiczne

Anna Szafranek-Nakonieczna, Anna Pytlak, Kinga Proc, Ewelina Głąb,  
Andrzej Górski, Natalia Łopacka, Zofia Stępniewska

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin, e-mail: anna.szafranek@kul.pl.

Osadzanie się materii organicznej w postaci torfu i gytii jest procesem długotrwałym i wymagającym warunków anaerobowych, które zapewniane są dzięki dużej wilgotności. Takie warunki sprzyjają rozwojowi mikroorganizmów wytwarzających metan ( $\text{CH}_4$ ) oraz towarzyszących im bakterii, z którymi tworzą konsorcja. Metan jest ważnym gazem szklarniowym ale też cennym surowcem energetycznym, z tego względu wytwarzające go mikroorganizmy mogą być użyteczne biotechnologicznie.

Celem prezentowanej pracy było zbadanie możliwości namnażania metanogenicznych konsorcjów pochodzących z gleby torfowej oraz gytii w warunkach laboratoryjnych i wskazanie optymalnych warunków do ich hodowli. Jako potencjalne źródło mikroorganizmów wytypowano najaktywniejsze metanogenicznie poziomy w profilu torfowiska przejściowego (Poleski Park Narodowy, 30-45cm dla torfu i 140-200cm dla gytii). Doświadczenie prowadzono w warunkach:  $\text{pH}=7$ , temperatura  $10-40^\circ\text{C}$ , podłoże płynnych, zróżnicowanych pod względem źródeł węgla, inokulowane materiałem organicznym.

Tempo przyrostu metanu w czasie kontrolowano chromatograficznie (GC 3800, Varian), na tej podstawie wyznaczono aktywności metanogeniczne badanych konsorcjów (AM), które sięgały  $340$  i  $470 \mu\text{M l}^{-1} \text{d}^{-1}$  odpowiednio dla konsorcjum pochodzącego z torfu i gytii. Otrzymane wyniki potwierdzają możliwość hodowli mikroorganizmów metanogenicznych pochodzących z torfu i gytii w warunkach laboratoryjnych co wskazuje na możliwość ich biotechnologicznego wykorzystania.

Słowa klucze: metanogeneza, konsorcjum metanogeniczne, torf, gytia

### **Methanogenic potential of microorganisms inhabiting organic sediments**

Organic matter deposition in form of peat and gyttja is long-term process demanding anaerobic conditions provided by high moisture. Such conditions are favorable for growth of microorganisms producing methane ( $\text{CH}_4$ ) and accompanying them bacteria. Methane is an important greenhouse gas but also a valuable energy source, therefore, the microorganisms responsible for its production can be biotechnologically useful.

The purpose of this work was to investigate the possibility to culture methanogenic consortia derived from peat soil and gyttja and to indicate optimal conditions for that process. As the potential source of microorganisms, the most active methanogenic levels from peat were identified in the transitional peat profile (Poleski National Park, 30-45 cm for peat and 140-200 cm for gyttja). The experiment was carried out under the following conditions:  $\text{pH} = 7$ , temperature  $10-40^\circ\text{C}$ , liquid medium, differentiated carbon source, inoculated with organic material.

The increase of methane concentration in time was controlled by chromatography (GC 3800, Varian), on this basis the methanogenic activity of the consortiums (AMs), which reached  $340$  and  $470 \mu\text{M l}^{-1} \text{d}^{-1}$  respectively for peat and gyttja were determined. The results confirm the possibility of culturing of the methanogenic microorganisms in laboratory conditions, what indicate the possibility of their biotechnological use.

Keywords: methanogenesis, methanogenic consortium, peat, gyttja



## **Charakterystyka metaboliczna konsorcjum metanotroficznego wyizolowanego z otoczenia pokładów w Kopalni Soli „Wieliczka”**

Weronika Goraj<sup>1</sup>, Anna Pytlak<sup>1</sup>, Anna Szafranek-Nakoneczna<sup>1</sup>,  
Magdalena Frąć<sup>2</sup>, Karolina Oszust<sup>2</sup>, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin, tel. 81 454-54-61; e-mail: weronikagoraj@kul.pl

<sup>2</sup> Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Życie mikroorganizmów determinowane jest wieloma czynnikami fizycznymi, geochemicznymi, biologicznymi takimi jak: dostępność wody, składników odżywczych, mikro- i makroelementów, temperatura, pH, zasolenie, czy ciśnienie. Ostatnie badania potwierdzają obecność mikroorganizmów w głębokiej biosferze. Takim ekosystemem jest m.in. Kopalnia Soli „Wieliczka”. Wiele mikroorganizmów ekstremofilnych, występujących w naturze, posiada właściwości mające perspektywę biotechnologicznego i komercyjnego zastosowania. Izolacja i charakterystyka mikroorganizmów z nowych siedlisk pozwoli rozszerzyć znane do tej pory możliwości ich wykorzystania.

Materiałem badawczym była aktywna metanotroficznie skała towarzysząca pokładom soli. Pod względem litologicznym był to mułowiec z żyłami soli włóknistej i żyłami anhydrytu – skała płona ze złoża pokładowego soli zielonych. Po powierzchniowej sterylizacji skał, pobrano rozdrobniony materiał skalny, którym zaszczepiono mineralną pożywkę NMS, którą inkubowano z dodatkiem 10% (v/v) metanu. Identyfikację konsorcjum wykonano na podstawie sekwencjonowania nowej generacji (NGS), z wykorzystaniem technologii MiSeq (Illumina), (GENOMED S. A.). Charakterystykę metaboliczną wyizolowanego konsorcjum metanotroficznego wykonano w oparciu o System BIOLOG® wykorzystujący zasadę „metabolicznego odcisku palca” (ang. metabolic fingerprint) w celu identyfikacji mikroorganizmów.

Słowa kluczowe: metanotrofy, metan, Wieliczka, kopalnia soli

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2014/15/N/NZ8/00315 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

### **Metabolic characteristics of methanotrophs consortium isolated from rocks surroundings salt deposits in “Wieliczka” Salt Mine**

Microbial life is determined by physical, geochemical, and biological factors such as availability of liquid water, nutrients, trace elements, temperature, pH, salinity, and pressure. Recent studies have shown the presence and activity of cells in the deep biosphere. Such an ecosystem is the “Wieliczka” Salt Mine. A large number of the extremophiles present in nature have properties that have biotechnological and commercial uses. Isolation and characterization of microorganisms from new habitats will expand the possibilities of their use.

The research material was the rocks surrounding salt deposits in Wieliczka (siltstones with veins of fibrous salt and lenses of anhydrite). After surface sterilization, crushed rock was collected from the interior of the block in order to be used for isolation of the methanotrophs. The material was incubated with 10% (v/v) methane. Identification of the methanotrophic consortium was performed on the basis of NGS by MiSeq technology (Illumina), (GENOMED S. A.). Microbial metabolic characteristics was performed by BIOLOG® System, where metabolic fingerprint was used to identify the microorganisms.

Keywords: methanotrophs, methane, Wieliczka, salt mine

This project was financed by the National Science Centre (Poland), granted on the basis of decision DEC-2014/15/N/NZ8/00315.

## Ocena aktywności enzymatycznej w monitoringu gleb uprawnych w Polsce

Anna Gałązka, Karolina Gawryjolek, Barbara Abramczyk, Małgorzata Łyszcz

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa- Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czarzoryskich 8, 24-100 Puławy

Celem pracy było zastosowanie metodyki oznaczania aktywności enzymatycznej gleb jako wskaźnika oceny jakości w monitoringu gleb uprawnych w Polsce. Materiał glebowy stanowiły próbki glebowe pochodzące z krajowego monitoringu chemizmu gleb pobrane w roku 2015. Program ten obejmuje 216 lokalizacji reprezentujących użytki rolnicze, głównie grunty orne z całego kraju. Próbkę glebową są pobierane z stałych punktów pomiarowo-kontrolnych, zlokalizowanych na gruntach ornym charakterystycznych dla pokrywy glebowej kraju. Reprezentują one użytki rolnicze o różnym stopniu intensyfikacji produkcji rolnej znajdujące się w obszarach oddziaływania rolniczej i pozarolniczej działalności człowieka. Baza danych charakteryzujących gleby w miejscu pobrania próbek obejmuje szereg właściwości, takich jak odczyn, zasolenie, poziom zanieczyszczenia metalami i zanieczyszczeniami organicznymi, zawartość węgla i składników nawozowych, skład granulometryczny i in. Aktywność enzymatyczną gleb (aktywność dehydrogenaz, fosfataz kwaśnej i zasadowej) oznaczono w próbkach monitoringowych i skorelowano z danymi charakteryzującymi właściwości fizyko-chemiczne gleb.

Słowa kluczowe: gleba, aktywność enzymatyczna, dehydrogenaza, fosfataza, wskaźnik mikrobiologiczny

Badania wykonano w ramach realizacji zadanie 1.4. Ocena i kształtowanie bioróżnorodności środowiska glebowego oraz aktywności mikrobiologicznej gleb z uwzględnieniem różnych warunków siedliskowych i systemów gospodarowania. Program Wieloletni IUNG-PIB na lata (2016-2020).

### **Evaluation of enzymatic activities in arable soil monitoring programme in Poland**

The aim of the study was to use the methodology of determination of enzymatic activity of soil as an indicator for evaluation of quality in arable soil monitoring programme in Poland. Soil samples from Monitoring of arable soils in Poland were taken for analysis. The monitoring includes 216 points of sampling on arable land across Poland. They represent areas of quite high degree of intensive tillage located in areas of other than agriculture influence of human activity. Database that characterizes location of soil sampling includes: pH, salinity, content of metals, and organic compounds, carbon content, macronutrients content, texture and others. Enzymatic activity of soils (dehydrogenase activity, acidic and alkaline phosphatase activity) was determined in soil samples and correlated with data regarding physical and chemical properties of soils.

Key words: soil, enzymatic activity, dehydrogenase, phosphatase, microbial indicator

### **Analiza profilu metabolicznego mikroorganizmów zasiedlających liść *Paulownia* spp.**

Małgorzata Łyszcz<sup>1</sup>, Anna Gałązka<sup>1</sup>, Magdalena Frąc<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa- Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czarторыskich 8, 24-100 Puławy

<sup>2</sup>Zakład Badań Systemu Gleba-Roślina, Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego (IA PAN), ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Obecnie gatunek drzewa *Paulownia* spp. jest jednym z najczęściej wykorzystywanych w plantacjach lasów o krótkiej rotacji (SRF - short rotation forestry). Drzewa te są szeroko stosowane do produkcji biomasy i zmniejszenia stężenia CO<sub>2</sub> w atmosferze. Liście *Paulownia* spp. charakteryzują się wysoką zawartością białek, tłuszczów, cukrów oraz azotu, fosforu i potasu. W związku z czym często wykorzystywane są jako pasza dla zwierząt i zielony nawóz. Celem niniejszych badań była analiza profilu metabolicznego mikroorganizmów zasiedlających liść *Paulownia* spp. Na podstawie Systemu Biolog Ecoplates. Materiał badawczy stanowiły liście *Paulownia* spp. pobrane z miejscowości Podkamins (plantacja założona na glebie ornej) i Otrębusy (plantacja założona na glebie zdegradowanej). Analizę przeprowadzono z pomocą standardowych metod statystycznych, w tym analizy skupień metodą Warda z uwzględnieniem kwadratu odległości euklidesowej. Wyliczono wskaźniki bioróżnorodności Shannona-Wienera (H'), bogactwa (R), jednorodności (E) oraz AWCD (average well color development). Mikroorganizmy w próbkach pochodzących z plantacji w Otrębusach charakteryzowały się największą aktywnością metaboliczną. Wśród pięciu badanych grup źródeł węgla węglowodany stanowiły najbardziej wykorzystywaną grupę związków.

Słowa klucze: *Paulownia* spp., Biolog Ecoplates, profil metaboliczny

Badania finansowane ze środków projektu NCN-Preludium, nr projektu 2016/23/N/NZ9/02157.

### **Analysis of metabolic profile of microorganisms inhabiting leaves of *Paulownia* spp.**

Currently, the species of *Paulownia* spp. are one of the most commonly used in short rotation forestry plantations (SRF). These trees are widely used to produce biomass and reduce CO<sub>2</sub> concentrations in the atmosphere. *Paulownia* spp. leaves have a high content of protein, fats, sugar and NPK. Hence, they are often used as animal feed and green fertilizer. The aim of this study was to analyse the metabolic profile of microorganisms inhabiting leaves of *Paulownia* spp. based on the Biolog Ecoplates System. The research material were leaves of trees *Paulownia* spp. Plant samples were taken from Podkamins (plantation established on arable soil) and Otrębusy (plantation established on degraded soil). The analysis was carried out using standard statistical methods, including cluster analysis by Ward's method, taking into account Euclidean square of distance. The Shannon-Wiener (H') biodiversity index, R Richness, E Evenness, and AWCD (average well color development) were calculated. Microorganisms in the samples from the Otrębusy plantation showed the highest metabolic activity. Among the five carbon sources studied, carbohydrates were the most frequently used group of compounds.

Keywords: *Paulownia* spp., Biolog Ecoplates, metabolic profile

Research funded by the NCN-Preludium project, 2016/23/N/NZ9/02157.

## **Genotypowanie szczepów *Azotobacter* sp. wyizolowanych z różnych gleb Polski**

Monika Kozieł, Stefan Martyniuk

mgr Monika Kozieł Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa-PIB, Puławy, mmaczka@iung.pulawy.pl

Bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* są tlenowymi, wolnożyjącymi diazotrofami, zasiedlającymi wiele środowisk takich jak: gleba, woda, osady ściekowe, powierzchnie korzeni i liści. Aktualnie znanych jest 7 gatunków tych bakterii. Są to: *A. armeniacus*, *A. beijerinckii*, *A. chroococcum*, *A. nigricans*, *A. paspali*, *A. salinestrus* i *A. vinelandii*. Gatunek *Azotobacter chroococcum* jest najszerszej rozpowszechniony w glebach całego świata, dominuje on również w glebach Polski.

Celem przeprowadzonych badań była identyfikacja molekularna izolatów *Azotobacter* wyodrębnionych z różnych gleb Polski, a także sprawdzenie czy w glebach Polski również dominuje gatunek *Azotobacter chroococcum*.

Materiał do badań stanowiły szczepy bakterii z rodzaju *Azotobacter* wyizolowane z gleb z obszarów całej Polski. W celu genotypowania zgromadzonych izolatów zastosowano dwie metody: ITS-PCR i sekwencjonowanie genu 16S rRNA.

Metoda ITS-PCR/RFLP potwierdziła przynależność badanych szczepów do tego samego gatunku – *Azotobacter chroococcum*, gdyż dla wszystkich badanych izolatów uzyskano ten sam profil elektroforetyczny (jeden produkt PCR o długości około 1000pz). Analiza uzyskanych sekwencji 16rDNA potwierdziła, że wyizolowane szczepy należą do gatunku *Azotobacter chroococcum*, a stopień identyczności wynosi od 98-100%.

Słowa klucze: *Azotobacter* sp., gleba, genotypowanie, ITS-PCR, 16S rDNA-PCR, gen 16S rRNA

### **Genotyping of *Azotobacter* sp. strains isolated from different soils in Poland.**

Bacteria belonging to the genus *Azotobacter* are aerobic, free-living diazotrophs. *Azotobacters* are found in many environments such as soil, water, sediments, surfaces of roots and leaves. Currently, the genus *Azotobacter* comprises 7 species: *A. armeniacus*, *A. beijerinckii*, *A. chroococcum*, *A. nigricans*, *A. paspali*, *A. salinestrus*, and *A. vinelandii*. *A. chroococcum* commonly occurs in soils all over the world. Thus, it is assumed that in Polish soils *Azotobacter chroococcum* predominates as well.

In this work we used molecular methods to identify of *Azotobacter* strains isolated from different soils in Poland and verifying that in Polish soils *Azotobacter chroococcum* predominates as well.

The material for the study was strains of bacteria of the genus *Azotobacter* isolated from soils from all over Poland. For genotyping of collected isolates two methods were applied: ITS-PCR and sequencing 16S rRNA genes.

ITS-PCR / RFLP method assay confirmed that the all strains belong to the same species - *Azotobacter chroococcum*, as the same isolate profile was obtained for all tested isolates (one PCR product of approximately 1000pz). Analysis of 16rDNA sequences confirmed that isolated strains belong to the species of *Azotobacter chroococcum*, and the degree of identity is 98-100%.

Keywords: *Azotobacter* sp., soil, genotyping, ITS-PCR, 16S rDNA-PCR, 16S rRNA gene

## **Porównanie metabolicznej różnorodności drobnoustrojów w glebie w różnych systemach gospodarowania**

Karolina Furtak, Anna Maria Gajda

Zakład Mikrobiologii Rolniczej; Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy;  
ul. Czarторыskich 8, 24-100 Puławy

W badaniach nad różnorodnością społeczności mikroorganizmów z zastosowaniem systemu Biolog EcoPlate można dokonać oceny profilu metabolicznego drobnoustrojów. Analiza w systemie Biolog opiera się na zmianie barwy wskaźnika podczas rozkładu źródła węgla w studzience. Płytką EcoPlate zawiera 31 różnych substratów węglowych umieszczonych w trzech powtórzeniach oraz wodę, jako próbę kontrolną. Na podstawie uzyskanych profili metabolicznych możemy otrzymać informację o dostępności do substratów przez badane zespoły drobnoustrojów oraz ocenić istotność danego procesu katabolizmu w glebie.

Materiał badawczy w przedstawionej pracy stanowiły próbki glebowe pochodzące z wieloletniego doświadczenia polowego w RZD IUNG-PIB w Osinach (woj. lubelskie). Doświadczenie to, obejmuje cztery systemy gospodarowania różniące się zmianowaniem oraz całokształtem agrotechniki: konwencjonalny, ekologiczny, integrowany oraz monokulturę pszenicy ozimej. Celem badań było porównanie aktywności metabolicznej mikroorganizmów bytujących w glebach pod pszenicą ozimą uprawianą w różnych systemach gospodarowania.

Najwyższa aktywność metaboliczna została zaobserwowana po 120 h inkubacji płytek. Dla każdej próby wyliczono wskaźnik AWCD, indeks różnorodności (R) oraz indeks Shannon-Wienera (H), które wykazały, że wyższą aktywnością oraz szybszym tempem wzrostu wykazywała się populacja bakterii z gleby z ekologicznego systemu gospodarowania.

Słowa klucze: System Biolog, EcoPlate, mikroorganizmy, uprawa roli, gleba

Badania sfinansowano częściowo z Programu Badawczego Wieloletniego IUNG-PIB Zadanie 1.3 i 1.4 oraz Statutowego Programu Badawczego 2.26.

## **Comparison of metabolic diversity of microorganisms in soil under different farming systems**

In the study on functional diversity of microbial communities an evaluation of the metabolic profile (*community level physiological profiles* - CLPP) can be conducted using Biolog system EcoPlate. This system is based on the color change of the indicator during the oxidation of the carbon sources in the well. The EcoPlate contains 31 different carbon substrates in triplicate and water as a control. Based on the obtained metabolic profiles we can receive any information on the utilization rate of C substrates by the soil microbial assemblies and to assess the relevance of the catabolism process in the soil.

The research was conducted in the years 2014 - 2016 on the long-term experimental fields under four different farming systems at the ES of IUNG-PIB in Osiny (Lublin voivodeship), Poland. This experiment includes four farming systems differ in crop management and applied agrotechnics: conventional, ecological, integrated, monoculture of winter wheat. The subject of the study was to determine changes in enzymatic activity in soil under winter wheat grown under different farming systems.

The highest metabolic activity was observed after 120 hours incubation. For each sample, the AWCD index, a diversity index (R) and Shannon-Wiener index (H) were calculated. The higher activity was observed for microorganisms from the soil under ecological farming system.

Keywords: Biolog System, EcoPlate, microorganisms, farming systems, soil

The research was supported partly by IUNG-PIB Research Programmes 1.3 and 1.4 and Research Statute Program 2.26.

## Mikrobiom gleb skażonych ropą

Jarosław Grządziel, Anna Gałązka

Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy,  
ul. Czarторыskich 8, Puławy

Celem badań było porównanie składu mikrobiomu bakteryjnego w glebach skażonych ropą naftową oraz glebach nieskażonych o różnej jakości użytkowej. Próbki zostały pobrane z czterech lokalizacji w okolicy szybów naftowych w Węglówce (woj. podkarpackie) oraz z ośmiu modelowych gleb z poletek doświadczalnych należących do IUNG-PIB w Puławach (woj. Lubelskie). Trzy spośród gleb modelowych charakteryzują się niskim pH (4,0 – 4,7), dwie lekko kwaśnym (5,4 – 5,6) oraz trzy zbliżonym do obojętnego (7,4 – 7,5). Zastosowano sekwencjonowanie następnej generacji regionu V3/V4 16S rDNA z wykorzystaniem aparatu Miseq (Illumina). Presja środowiskowa spowodowana wysokimi stężeniami wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) doprowadziła do ustabilizowania się zupełnie innego składu bakterii w porównaniu z glebami nieskażonymi. Skażone gleby charakteryzowały się m.in. większym występowaniem rodzaju *Mycobacterium* o ponad 20%, oraz spadkiem ilości rodzaju *Bacillus* o około 15%. Charakterystycznym dla tych gleb rodzajem był również *Flexibacter* oraz *Candidatus Solibacter*. Co ciekawe, jedna z gleb skażonych ropą wykazała bardzo zbliżony skład bakterii z nieskażoną, modelową glebą o najniższym odczynie (gleba rdzawa, pH 4,0).

Badania te będą kontynuowane w celu wyizolowania i przeprowadzenia charakterystyki genetycznej bakterii odpowiedzialnych za rozkład WWA.

Słowa klucze: gleby skażone, policykliczne węglowodory aromatyczne, mikrobiom gleby, *mycobacterium*, biodegradacja

### The microbiome of crude oil contaminated soils

The aim of the study was to compare the composition of bacteria microbiome in soils contaminated with crude oil and uncontaminated soils of different agricultural quality. Samples were taken from four locations near the oil wells in Weglowka (podkarpackie voivodship) and eight model soils from experimental plots in IUNG-PIB in Puławy (lubelskie voivodship). Three of the model soils are characterized by low pH (4.0 - 4.7), two slightly acidic (5.4 - 5.6) and three near to neutral (7.4 - 7.5). The next generation sequencing of the V3/V4 16S rDNA region using the Miseq (Illumina) instrument was used. The environmental pressure caused by the high concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) has led to a completely different bacterial composition of the soil compared to uncontaminated. The contaminated soils were characterized by, among others, a greater occurrence of *Mycobacterium* genus by more than 20%, and a decrease of *Bacillus* genus by about 15%. *Flexibacter* and *Candidatus Solibacter* were also characteristic for these soils. Interestingly, one of the soils contaminated with oil showed a very similar bacterial composition with an uncontaminated, model soil with the highest acidity (brunic arenosol, pH 4,0).

These studies will be continued to isolate and conduct genetic characterization of the bacteria responsible for PAH decomposition.

Keywords: soil pollution, polycyclic aromatic hydrocarbons, soil microbiome, *mycobacterium*, biodegradation

### **Dobór warunków hodowli dla *Rudbeckia laciniata* L. w kulturach *in vitro***

Mariusz Spaczyński, Monika Miłosz, Ewa Skórzyńska-Polit

Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin KUL

Celem pracy było opracowanie procedury mikrorozmnażania rudbekii nagiej (*Rudbeckia laciniata* L.) na zestalonej agarem pożywce MS z dodatkiem kombinacji różnych stężeń syntetycznej auksyny (NAA) oraz cytokininy (BAP). Jako materiał wyjściowy zastosowano eksplantaty z uprzednio wysterylizowanych liści. Hodowlę prowadzono w temp. 25°C ± 2°C - dzień/ 20°C noc przy naświetleniu o natężeniu 50 μmol/m<sup>2</sup> i fotoperiodzie 16/8 h. Analizowano parametry takie jak: procentowa ilość eksplantatów generujących pędy przybyszowe, liczba wytwarzanych pędów przybyszowych przypadająca na jeden eksplantat, poziom rozwoju tkanki kalusowej oraz liczebność wytwarzanych korzeni. Poziom indukcji kalusa przy zastosowaniu większości kombinacji fitohormonów był nieznaczny, wyjątkiem okazała się kombinacja 0,3 NAA i 5 BAP (mg/l pożywki). Optymalną pożywką do indukcji kaulogenezy okazało się podłoże MS z dodatkiem 0,5 NAA i 5 BAP (mg/l pożywki). Najintensywniejszą ryzogenezę zaobserwowano na podłożu z dodatkiem 0,5 NAA i 1 BAP (mg/l pożywki).

Słowa klucze: BAP – 6-benzylaminopuryna, kultura *in vitro*, NAA – kwas naftylo-1-octowy, *Rudbeckia laciniata*

#### **The selection of cultivation conditions for *Rudbeckia laciniata* L. in *in vitro* culture**

The aim of the study was to develop a micro-propagation protocol for *Rudbeckia laciniata* L. on MS medium with a combination of different concentrations of synthetic auxin (NAA) and cytokinin (BAP). Explants from leaves previously sterilized were used as a plant material. The culture was carried out at 25°C. ± 2°C- day/20°C -night at irradiation intensity of 50 μmol/m<sup>2</sup>, and a photoperiod of 16/8 h. The percentage of explants producing shoots, the number of shoots per explants, formation of callus tissue and the number of roots produced were assessed. The induction of callus by most of the phytohormone combinations was insignificant. Only the application of a combination of 0.3 NA and 5 BAP (mg/l medium) resulted in callus induction.. The optimal medium for caulogenesis was the MS medium supplemented with 0.5 NAA and BAP 5 (mg/l medium). The most intense rhizogenesis was observed on the medium supplemented with 0.5 NAA and 1 BAP (mg/l medium).

Keywords: BAP-6-benzylaminopurine, *in vitro* culture, NAA-naphthyl-1-acetic acid, *Rudbeckia laciniata*

## **Określenie zmian w jakości gleb i różnorodności drobnoustrojów glebowych jako efekt oddziaływania różnych systemów uprawy roli**

Anna Maria Gajda, Karolina Furtak, Ewa Antonina Czyż

Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy,  
ul. Czarzoryskich 8, 24-100 Puławy

Jakość gleby kształtowana jest poprzez wzajemne interakcje zachodzące pomiędzy właściwościami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi gleby. Ze względu na dynamiczny charakter i stosunkowo krótki czas reakcji biologiczne właściwości gleby uważane są za najbardziej wrażliwe na zmiany zachodzące w środowisku glebowym.

Celem przeprowadzonych badań było określenie zmian w środowisku glebowym związanych z oddziaływaniem bezorkowej uprawy roli w różnorodności drobnoustrojów i aktywności enzymatycznej w glebie pod pszenicą ozimą w stosunku do systemu tradycyjnego, płużnego.

Badania przeprowadzono w latach 2013-2016 w oparciu o pola doświadczalne zlokalizowane w RZD IUNG-PIB w Grabowie (woj. mazowieckie), na których od roku 2002 stosowane są różne systemy uprawy roli. Analizy gleby zostały wykonane przy zastosowaniu metod standardowych oraz dostępnych technik molekularnych. Analizy statystyczne wykonano w programie ANOVA. Istotność różnic przyjęto na poziomie  $P \leq 0,05$ . Uzyskane wyniki wykazały, że w glebie w uprawie uproszczonej zachodziły korzystne zmiany w jakości środowiska glebowego, co znalazło potwierdzenie w zróżnicowanych ilościach wyizolowanego z gleby DNA, wynikach analizy PCR-DGGE oraz wyższej aktywności enzymatycznej gleby (głównie dehydrogenaz i fosfataz), w porównaniu do systemu płużnego.

Słowa kluczowe: PCR-DGGE, mikroorganizmy, uprawa roli, gleba

Badania sfinansowano częściowo z Programu Badawczego Wieloletniego IUNG-PIB Zadanie 1.3 i 1.4 oraz Statutowego Programu Badawczego 2.26.

## **Assessment of changes in soil quality and diversity of soil microorganisms as an effect of impact of different soil tillage systems**

The concept of soil quality deals with an integrating soil physical, chemical and biological properties.

Due to the dynamic character and short time of reaction microbiological and biochemical soil properties are considered to be the most sensitive to changes occurring in the soil environment. The studies focused on assessment of changes in soil environment related to the impact of no-tillage system on diversity and activity of soil microbial communities in comparison to the tillage system based on ploughing.

Research was conducted in the years 2013-2016 on experimental fields started in 2002 at the ES of IUNG-PIB in Grabów (Mazovian voivodeship) under different tillage practices. Soil analysis were performed using both standard and molecular-base methods. Statistical analysis were made using the ANOVA method. The differences were considered as significant at  $P \leq 0,05$ . The reduced tillage system enhanced beneficial changes in soil environment what was reflected in varied quantities of isolated form soil DNA, results of PCR-DGGE analysis, and higher activity of soil enzymes (dehydrogenases and phosphatases) as compared to the tillage with mouldboard plough.

Keywords: PCR-DGGE, microorganisms, tillage system, soil

The research was supported partly by IUNG-PIB Research Programmes 1.3 and 1.4 and Research Statute Program 2.26.



## **Bakterie metanotroficzne – wybrane korzyści w biotechnologii środowiskowej**

Anna Walkiewicz, Andrzej Bieganowski, Małgorzata Brzezińska, Piotr Bulak,  
Katarzyna Jaromin-Gleń, Cezary Polakowski

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk,  
Zakład Biogeochemii Środowiska Przyrodniczego, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Bakterie metanotroficzne są szeroko obecne w środowisku i zasiedlają m.in. gleby, wody morskie i podziemne, osady, wysypiska. Wykorzystują metan ( $\text{CH}_4$ ) jako źródło węgla i energii, dzięki czemu obniżają stężenie atmosferyczne tego gazu cieplarnianego. Stąd często podkreślany udział metanotrofów w zapobieganiu globalnemu ociepleniu. Innym istotnym aspektem aktywności tych bakterii jest ich zdolność do unieszkodliwiania szerokiego spektrum zanieczyszczeń niebezpiecznych dla środowiska. Dzięki temu posiadają duży potencjał biotechnologiczny i możliwość zastosowania w biodegradacji i bioremediacji metali ciężkich i zanieczyszczeń organicznych. Zdolność do konwersji związków niebezpiecznych wynika z posiadania enzymu monoooksygenazy (MMO) związanej z błonami (pMMO) oraz formy rozpuszczalnej (sMMO), co wyróżnia metanotrofy spośród innych poznanych mikroorganizmów. Enzym ten katalizuje reakcje o znaczeniu środowiskowym – utlenianie alifatycznych i aromatycznych pochodnych metanu, alkanów i alkenów. Obecność metanotrofów w glebie może także wpływać na biodostępność metali ciężkich. Przedstawione zdolności tej grupy mikroorganizmów mogą znaleźć zastosowanie w remediacji zarówno *in situ* jak i *ex situ* (w bioreaktorach), zanieczyszczonych gleb, ścieków i zbiorników wodnych.

Słowa klucze: metan, bakterie metanotroficzne, gleba, biotechnologia środowiskowa, zanieczyszczenia organiczne, metale ciężkie.

### **Methanotrophic bacteria – selected benefits in environmental biotechnology**

Methanotrophic bacteria are widely present in the environment, in soil, seawater and underground waters, sediments, landfills. They use methane ( $\text{CH}_4$ ) as a carbon and energy source, therefore decrease atmospheric concentration of this greenhouse gas. Based on that methanotrophic bacteria participation in preventing in global warming is often emphasized. Another important aspect of activity of these bacteria is ability to dispose of a wide spectrum of pollutants hazardous environmentally. Thanks that they have high biotechnological potential and possibility of usage in biodegradability and bioremediation of heavy metals and organic pollutants. The ability to convert dangerous compounds is due to the presence of monoxygenase (MMO) – a membrane-bound enzyme (pMMO) and the soluble form (sMMO), which distinguishes methanotrophs from other known microorganisms. This enzyme catalyzes reactions with importance environmental - aliphatic oxidation and aromatic derivatives of methane, alkanes and alkenes. The presence of methanotrophs in the soil can also affect the bioavailability of heavy metals. Presented capabilities of this group of microorganisms can be applied in both *in situ* and *ex situ* (in bioreactors) remediation of polluted soils, wastewater and water reservoirs.

Keywords: methane, methanotrophic bacteria, soil, environmental biotechnology, organic pollutants, heavy metals.

## **Rolnicze wykorzystanie pofermentu z biogazowni odpadów cukrowniczych**

Andrzej Baryga, Bożenna Poćć

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego, Zakład Cukrownictwa

Przeprowadzono trzyletnie badania polowe określające przydatność pofermentu z biogazowni odpadów cukrowniczych do rolniczego wykorzystania w uprawie buraka cukrowego (odmiana *Beta vulgaris* Fighter) oraz roślin energetycznych: wierzby (odmiany Turbo *Salix viminalis* i Wodtur *Salix dasyclados*) i kukurydzy (odmiana *Zea mays* Cannavaro).

W badaniach stosowano jako kontrolę nawożenie mineralne odpowiadające potrzebom pokarmowym poszczególnych roślin oraz nawożenie z wykorzystaniem pofermentu w dawkach zawierających zawartość azotu taką, jak przy nawożeniu mineralnym.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy przyswajalnością składników nawozowych NPK zawartych w nawozach mineralnych, a dostarczanych w postaci pofermentów z biogazowni odpadów cukrowniczych.

W badaniach na plantacji buraka cukrowego stwierdzono możliwość wykorzystywania rolniczego pofermentów bez ujemnego wpływu na rozwój roślin oraz jakość chemiczną i wartość technologiczną otrzymanego surowca.

Badania na plantacji wierzby energetycznej wykazały brak ujemnego wpływu pofermentów na rozwój roślin, przyrost i skład chemiczny biomasy. Porównawcze badania 2 odmian wierzby energetycznej wykazały, że głównym czynnikiem powodującym zmienność wyników zarówno plonowania jak i składu chemicznego był czynnik genetyczny, a nie sposób nawożenia.

Badania na plantacji kukurydzy energetycznej wykazały brak ujemnego wpływu pofermentów na rozwój roślin, przyrost, skład chemiczny biomasy i jej wartość opałową.

Słowa klucze: odpady cukrownicze, biogazownia, poferment, rolnicze wykorzystanie, burak cukrowy, kukurydza, wierzba energetyczna

### **Agricultural application of digestate from biogas plant of sugar refuse**

A three-year field study was conducted to determine the usefulness of digestate from biogas plant of sugar refuse for the purpose of agricultural application in sugar beet cultivation (*Beta vulgaris* cultivar Fighter), as well as in cultivation of energy plants: willow (*Salix viminalis* c. Turbo and *Salix dasyclados* c. Wodtur) and maize (*Zea mays* c. Cannavaro).

Mineral fertilization, corresponding to the nutritional needs of individual plants, was conducted as a control. The studies used fertilization with digestate at doses containing nitrogen as in mineral fertilization.

No significant differences were found between the assimilation of NPK fertilizers contained in mineral fertilizers, and those delivered in the form of digestate from biogas plant of sugar refuse.

The research conducted on sugar beet plantation found the possibility of agricultural use for digestate without negative influence on the development of plants and the chemical quality and technological value of the obtained raw materials.

Studies on energy willow plantations showed no negative influence of digestate on plant growth, biomass growth and its chemical composition. Comparative studies of two energy willow cultivars have shown that the main factor causing variation in both yield and chemical composition was the genetic factor and not the way of fertilization.

Studies on energy maize plantations showed no negative impact of digestate on plant development, growth, chemical composition of biomass and its calorific value.

Keywords: sugar refuse, biogas plant, digestate, agricultural application, sugar beet, maize, energy willow

## Charakterystyka fenotypowa i genotypowa mikrosymbiontów Złotokapu zwyczajnego (*Laburnum anagyroides Medik.*)

Monika Elżbieta Jach<sup>1</sup>, Ewa Sajnaga<sup>2</sup>, Maria Ziaja<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski, Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN,  
ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>3</sup> Uniwersytet Rzeszowski, Katedra Nauk Przyrodniczych, ul. Cicha 2, 35-959 Rzeszów

*Laburnum anagyroides Medik.* złotokap zwyczajny to popularny w Polsce krzew ozdobny należący do rodziny bobowatych. Roślina ta ma zdolność wchodzenia w symbiozę z bakteriami brodawkowymi, które wiążą azot atmosferyczny. Z brodawek korzeniowych *L. anagyroides* rosnących na terenie Polski południowo-wschodniej wyizolowano 20 mikrosymbiontów bakteryjnych, które poddano analizie fenotypowej i genotypowej. Przeprowadzone analizy pokazują, że wyizolowane bakterie są Gram-ujemnymi pałeczkami o długim czasie generacji, wynoszącym 8-9 h. Wszystkie izolaty wykazywały zdolność wzrostu w temperaturze od 20 do 42°C z optimum w temp. 30 do 35°C oraz pH od 6 do 10 z optimum pH 7 - 9. Badane izolaty wykazywały zdolność ruchu oraz produkowały katalazę, oksydazę cytochromową, alkalizując podłoże podczas wzrostu. Wykazywały zdolność wzrostu na podłożach zawierających barwniki takie jak czerwień Kongo (0.025%) czy błękit bromotymolowy (0.0025%) i nie wytwarzały eskulinazy. Badane izolaty wytwarzały efektywne brodawki korzeniowe na swoim gospodarzu w hodowli donicowej po 6 tygodniach. Genomową różnorodność bakterii oznaczono przy zastosowaniu techniki BOX-PCR, co pozwoliło wyodrębnić 3 odrębne grupy izolatów w badanej kolekcji. Wyniki te potwierdziły również badania PCR-RFLP regionu 16S-23S rDNA. Analiza sekwencji genu kodującego 16S rRNA wykazała, że badane bakterie są blisko spokrewnione filogenetycznie i należą do rodzaju *Bradyrhizobium*.

Słowa klucze: bakterie brodawkowe, złotokap zwyczajny, różnorodność, filogeneza

### Phenotypic and genotypic characteristics of microsymbionts of *Laburnum anagyroides Medik.*

*Laburnum anagyroides Medik.* is a decorative, popular in Poland, shrub belonging to the family *Fabaceae*. *Laburnum* is able to enter symbiosis with rhizobia enabling nitrogen-fixing. Twenty rhizobial strains were isolated from root nodules of *L. anagyroides* grown in southeastern Poland. Phenotypic analysis showed that all isolates are Gram-negative rod-shaped bacteria. They grew slowly, with a generation time of about 8-9 h. All the isolates grew between 20 and 42°C with an optimum of 30 and 35°C, and at pH from 6 to 10 with an optimum of 7-9. All isolates were capable of motility and producing catalase and cytochrome oxidase, alkalizing the medium during their growth. They had the ability to grow on dye substrates such as Congo Red (0.025%) or bromothymol blue (0.0025%) and did not produce esculinase. All isolates were able to renodulate their original host after 6 weeks of sterile soil cultivation. The genomic diversity of tested strains was examined using BOX-PCR fingerprinting. Based on cluster analysis the strains were divided into 3 separate clusters. These results were supported by the grouping results of 16S-23S rDNA PCR-RFLP. The analysis of 16S rRNA gene sequences showed that studied bacteria are closely related each other phylogenetically and belong to the genus *Bradyrhizobium*.

Keywords: symbiotic nitrogen-fixing bacteria, laburnum, diversity, phylogeny

## Selekcja szczepów grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Aureobasidium* do produkcji ksylitolu z D-ksylozy

Monika Kordowska-Wiater, Monika Pytka, Małgorzata Kalwat

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Ksylitol jest pięciowęglowym polialkoholem. Ma właściwości typowe dla słodzików. Jest substancją słodzącą, zagęszczającą, utrzymującą wilgotność, stabilizującą i emulgującą, może więc być stosowany jako dodatek do żywności oraz środków farmaceutycznych. Ma właściwości przeciwnowotworowe. Może być stosowany przez diabetyków, gdyż jego metabolizm jest niezależny od insuliny i nie podnosi stężenia glukozy we krwi.

Ksylitol może być otrzymywany metodą biotechnologiczną z D-ksylozy przez drożdże lub grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Aureobasidium*. W badaniach użyto 25 izolatów pozyskanych z materiału roślinnego i genetycznie zidentyfikowanych jako *Aureobasidium pullulans*. 20 izolatów wykazało zdolność do asymilacji D-ksylozy. W drugim etapie selekcji prowadzono hodowle wytrąsane w podłożu płynnym zawierającym 20 g/l D-ksylozy. Drobnoustroje inkubowano w temp. 28°C, przy 150 obr/min przez 3 doby. Co 24 godziny pobierano próbki w celu analizy zawartości ksylozy i ksylitolu metodą HPLC. Najbardziej efektywne okazały się szczepy W1F5, W3F1, W3F2 (z liści winogron) oraz szczep 30-J-2 (z kwiatów jabłoni), które wyprodukowały 2,1-2,7 g/l ksylitolu po 3 dobach inkubacji. Wydajności mieściły się w zakresie 0,11-0,25 g/g. Podwyższenie obrotów hodowli do 200 obr/min i temperatury do 32 °C nie przyniosło wzrostu produkcji polioli. Badania selekcyjne potwierdziły przydatność grzybów *Aureobasidium pullulans* do biotechnologicznej produkcji ksylitolu.

Słowa kluczowe: *Aureobasidium*, D-ksyloza, ksylitol, selekcja

### Selection of strains of yeast-like fungi *Aureobasidium* spp. for the xylitol production from D-xylose

Xylitol is a five-carbon polyol. It has typical properties for sweeteners. It is a sweetening, thickening, moisturizing, stabilizing and emulsifying agent and can therefore be used as a food and a pharmaceutical additive. It has anti-carcinogenic properties. It may be used by diabetics, because its metabolism is independent of insulin and does not raise glucose concentration in a blood.

Xylitol can be obtained by biotechnological method from D-xylose by yeasts or yeast-like fungi from the genus *Aureobasidium*. 25 isolates were obtained from plant material and genetically identified as *Aureobasidium pullulans*. 20 isolates showed the ability to assimilate D-xylose. In the second selection stage, cultures were shaken in a liquid medium containing 20 g/l of D-xylose. The microorganisms were incubated at 28 °C, 150 rpm for 3 days. Every 24 hours, samples were taken to analyze the xylose and xylitol content by HPLC. W1F5, W3F1, W3F2 (from grape leaves) and 30-J-2 (apple blossom) strains were the most effective. They produced 2,1-2,7 g/l xylitol after 3 days. The yields ranged from 0,11 to 0,25 g/g. Raising the culture speed to 200 rpm and temperature to 32°C did not lead to an increase in polyol production. Selection studies have confirmed the usefulness of *Aureobasidium pullulans* for biotechnological xylitol production.

Keywords: *Aureobasidium*, D-xylose, xylitol, selection

### **Charakterystyka bakterii *Xenorhabdus* symbiotycznie związanych z nicieniami *Steinernema poinari***

Ewa Sajnaga, Waldemar Kazimierczak, Anna Kreft, Marcin Skowronek

Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN, ICBN, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II,  
Ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, email: esajnaga@kul.pl

Bakterie należące do rodzaju *Xenorhabdus* (*Enterobacteriaceae*) wchodzą w obligatoryjną symbiozę z nicieniami entomopatogenicznymi rodzaju *Steinernema*. Symbiotyczne bakterie wraz z nicieniami zabijają owada a następnie namnażają się w nim. Bakterie rodzaju *Xenorhabdus* i związane z nimi symbiotycznie nicienie są obiektem licznych badań ze względu na możliwość wykorzystania jako efektywnych biopestycydów. Stanowią one także modelowe organizmy w badaniach nad symbiozą mutualistyczną. Dla wielu nicieni mikrosymbionty nie zostały jeszcze opisane. Celem badań była identyfikacja i charakterystyka 3 szczepów *Xenorhabdus* wyizolowanych z nicieni *Steinernema poinari* występujących w Polsce. Pozycję taksonomiczną izolatów ustalono na podstawie sekwencji genów metabolizmu podstawowego. Określono także właściwości fenotypowe badanych szczepów. Wyniki wskazują, że badane izolaty należą do gatunku *Xenorhabdus bovienii*. Jest to gatunek *Xenorhabdus* o najszerszym zakresie gospodarza, wchodzący w symbiozę z kilkunastoma gatunkami nicieni. Badania te po raz pierwszy wskazują na symbiozę *X. bovienii* z *S. poinari*.

Słowa klucze: *Xenorhabdus*, nicienie entomopatogeniczne, mutualizm

### **Characterization of *Xenorhabdus* bacteria symbiotically associated with nematode *Steinernema poinari***

Bacteria of the genus *Xenorhabdus* (*Enterobacteriaceae*) form obligate symbioses with entomopathogenic nematodes from the genus *Steinernema*. Together bacterial symbionts and nematodes successfully kill their insect host and reproduce in insect cadaver. Interest in studying insect-parasitic nematodes and their symbiotic bacteria is focused on their potential as a very effective biopesticides. Moreover, this symbiotic partnership is a model system to study details of mutualism. Many bacteria isolated from *Steinernema* have been not described yet. The aim of this study was identification and characterization of 3 *Xenorhabdus* strains isolated from the nematode *Steinernema poinari* collected in Poland. Taxonomic position of the isolates was established by comparative analysis of five housekeeping gene sequences. Molecular identification was supported by their phenotypic characterization. All these results indicate that tested isolates belong to *Xenorhabdus bovienii*. This species appears to be most promiscuous among *Xenorhabdus* associating with many *Steinernema* species. This is the first report showing the symbiotic association of *X. bovienii* with *S. poinari*.

Keywords: *Xenorhabdus*, entomopathogenic nematodes, mutualisms

## **Ocena różnorodności genetycznej grzybów oraz profilu metabolicznego w długoletniej monokulturze kukurydzy z zastosowaniem różnych technik uprawy gleby**

Anna Gałązka, Jarosław Grządziel

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa- Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czarzoryskich 8, 24-100 Puławy

Badania obejmowały ocenę zróżnicowania genetycznego populacji grzybów poprzez zastosowanie metody ITS Next Generation Sequencing (NGS) oraz charakterystykę profilu metabolicznego w glebie w długoletniej monokulturze kukurydzy uprawianej z zastosowaniem różnych technik uprawy roli. Ocenę profilu metabolicznego wykonano z zastosowaniem metody Biolog EcoPlate. Połączenie dwóch powyższych metod badawczych w ocenie bioróżnorodności grzybów przyczyniło się do lepszego zrozumienia zmian w strukturze grzybów oraz metabolizmie funkcjonalnym gleby w zależności od zastosowanej techniki uprawy gleby. Próbki glebowe pobrano w dwóch terminach: wiosna (przed siewem) oraz latem (faza kwitnienia kukurydzy). Zastosowane metody badawcze stosowane w tej dziedzinie przyczyniły się do lepszego zrozumienia różnorodności genetycznej i składu populacji grzybów w środowisku glebowym pod wpływem zmian zachodzących w glebie w uprawie kukurydzy w długoletniej monokulturze. Badanie to sugerowało, że: (1) odnotowano istotne zmiany w różnorodności populacji grzybów w glebie w zależności od zastosowanych różnych technik uprawy roli; (2) zastosowane techniki uprawy gleby powodowały także istotne zmiany w profilu metabolicznym badanej gleby. Kukurydza uprawiana w bezpośrednim siewie nie powodowała drastycznych zmian w strukturalnej populacji grzybów. Pełna uprawa płużna oraz uprawa uproszczona powodowały zmiany genetycznej i funkcjonalnej różnorodności populacji grzybów. Największe zmiany w grzybowym mikrobiomie zaobserwowano w glebie pobranej spod uprawy kukurydzy w pełnej uprawie płużnej.

Słowa klucze: różnorodność grzybów, zróżnicowanie metaboliczne, Biolog EcoPlates, ITS NGS

### **Fungal genetics and functional diversity in soil under long-term monoculture of maize in different cultivation techniques**

The study included fungal genetic diversity assessment by ITS Next Generation Sequencing (NGS) analyses as well as the characterization of the catabolic potential of microbial communities in soil under long-term monoculture of maize in different cultivation techniques. The soil metabolome was based on the Biolog EcoPlate. The results obtained from the ITS NGS techniques enabled to classify and correlate the fungi species or genus to the soil metabolome. The usefulness of metagenomics was emphasized in assessment fungal diversity in soil collected from spring (before sowing) and summer (flowering stage) in different cultivation techniques. The research methods used in this subject have contributed to a better understanding of genetic diversity and composition of the population of fungi in the soil environment under the influence of the changes that have taken in soil under long-term maize cultivation. This study suggested that: (1) fungal diversity was changed under the influence different cultivation techniques; (2) cultivation techniques can alter fungal core microbiome in soil under long-term monoculture of maize. Maize cultivated in direct sowing did not cause drastic changes in the fungal structure making it more stable even during seasonal changes; (3) full tillage and crop rotation may change fungal soil microbiome and soil function. The biggest changes in fungal genetic core microbiome were observed in full tillage maize cultivation.

Keywords: fungal community, genetic diversity, metabolic profiles, Biolog EcoPlates, ITS NGS

## Ocena różnorodności genetycznej i funkcjonalnej bakterii w glebie długoletnio skażonej ropą naftową

Anna Gałązka<sup>1</sup>, Jarosław Grządziel<sup>1</sup>, Rafał Gałązka<sup>2</sup>,  
Aleksandra Ukalska-Jaruga<sup>2</sup>, Bożena Smreczak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Rolniczej,

<sup>2</sup>Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów;

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa- Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

Celem pracy była ocena funkcjonalnej i strukturalnej różnorodności bakterii w glebach długoletnio skażonych ropą naftową oraz identyfikacja głównych grup bakterii, które mogłyby wskazywać na zmiany w glebie pod wpływem zanieczyszczenia. Uzyskano znaczne różnice w strukturze społeczności bakterii między badanymi glebami. Gleby pobierane bezpośrednio spod wyciągów glebowych charakteryzowały się odmienną strukturą genetyczną bakterii w porównaniu do gleb pobranych w odległości 3 metrów od wyciągu. Technice sekwencjonowania następnej generacji (rRNA V3-V4 16S) towarzyszyła metoda profilowania fizjologicznego mikroorganizmów (CLPP) w celu lepszego zrozumienia zarówno struktury genetycznej, jak i funkcjonalnej gleb. Najwyższą aktywność w profilu metabolicznym uzyskano w glebach pobranych bezpośrednio spod wyciągu ropy naftowej. Obserwowano również najwyższe wskaźniki bioróżnorodności w tych glebach. Liczebność *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* była silnie skorelowane z aktywnością biologiczną w glebach pobranych bezpośrednio spod wyciągu ropy. Również niektóre rodziny *Alphaproteobacteria* dominowały w glebie pobieranej bezpośrednio spod wyciągów: *Bradyrhizobiaceae*, *Rhizobiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Acetobacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae* i *Sphingomonadaceae*. Wyniki badań wyraźnie wykazały, że długotrwałe skażenie gleby może drastycznie zmienić różnorodność strukturalną i funkcjonalną bakterii i przyczynić się do wyspecjalizowania specyficznych grup bakterii zdolnych do adaptacji w warunkach silnego skażenia ropą naftową.

Słowa klucze: jakość gleby, społeczność bakteryjna, zróżnicowanie bakteryjne, Biolog EcoPlates; V3-V4 16S rRNA region

## Assessment of genetic and functional diversity of bacterial community in soils long-term contaminated with crude oil

The aim of the study was to evaluate functional and structural diversity of bacteria in soils long term contaminated with crude oil and also to identify the main groups of bacteria that could be indicators of changes in the soil under the influence of pollution. The significant differences of bacterial community structure between soils were obtained. The soils taken directly from oil wells were characterized by different composition of bacteria. The next generation sequencing technique (V3-V4 16S rRNA) was accompanied with the community level physiological profiling (CLPP) method in order to better understand knowledge of both genetic and functional structure of soils collected under several oil wells. The highest activity of carbon utilization patterns were observed in soils taken directly from oil wells. Also the highest biodiversity indexes were observed in these soils. The *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* were strongly correlated with biological activity in soils taken directly from oil wells. Also some family of *Alphaproteobacteria* were dominant in soil taken directly from oil wells: *Bradyrhizobiaceae*, *Rhizobiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Acetobacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae* and *Sphingomonadaceae*. The study clearly proved that the long term contamination of soil may change bacterial community structure and their metabolic activity and help to develop completely different group of bacteria.

Key words: soil quality; bacterial community; Biolog EcoPlates; V3-V4 16S rRNA gene region; functional bacterial fingerprinting

## **Zastosowanie techniki adsorpcji azotu w badaniach parametrów powierzchniowych frakcji glebowych substancji humusowych\***

Patrycja Boguta, Małgorzata Łukowska, Kamil Skic,  
Zofia Sokołowska, Marta Cybulak, Agnieszka Tomczyk

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego, Polskiej Akademii Nauk w Lublinie, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Substancje humusowe (SH) należą do jednych z najważniejszych składników gleb. Ich obecność determinuje pojemność sorpcyjną i buforową, ma kluczowe znaczenie w zatrzymywaniu mikroelementów. Gałęzie nowoczesnej nauki: biotechnologia, chemia i biochemia skupiają się na efektywnych metodach produkcji SH, ochronie ich naturalnych zasobów, a przede wszystkim na optymalizacji metod badań dynamiki zmian SH. Celem niniejszej pracy było zastosowanie sorpcji par azotu do określenia właściwości powierzchniowych frakcji glebowych związków próchnicznych. Frakcję kwasu huminowego (KH) i fulwowego (KF) wyizolowano z czarnoziemu metodą rekomendowaną przez Międzynarodowe Towarzystwo Substancji Humusowych (IHSS). Proces adsorpcji rejestrowano przy użyciu nowoczesnego analizatora 3 Flex (Surface Characterization Analyzer, 2015 z przystawką Smart Vap Prep, Micrometrics. Do opisu danych doświadczalnych adsorpcji – desorpcji zastosowano model BET. Z uzyskanych danych, oszacowano powierzchnię właściwą, promień, rozkład i objętość porów. Wyniki pokazały, iż powierzchnia właściwa KF była większa niż KH. Średni promień mezoporów był niemal identyczny, jednak ich objętość była nieznacznie większa dla KH. W rozkładzie wielkości porów KH (spośród 7 analizowanych zakresów) dominował udział frakcji 1-2,5nm, podczas gdy w KF dominowały frakcje 1- 2,5nm oraz 2-2,5nm. Uzyskane informacje wskazywały na wysoki potencjał wykorzystanej techniki w badaniach właściwości powierzchniowych SH.

Słowa kluczowe: kwasy fulwowe, kwasy huminowe, powierzchnia właściwa

\*Praca została zrealizowana w ramach projektu badawczego. Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/11/D/NZ9/02545.

## **Application of the nitrogen adsorption technique in the studies of surface properties of the fractions of soil humic substances\***

Humic substances (HS) belong to one of the most important components of soils. They determine the sorption and buffer capacity of soils showing key role in the retention of nutrients. The branches of modern science: biotechnology, chemistry and biochemistry focus on efficient methods of production of humic substances, protection of their natural resources, and especially on optimizing methods of studying the dynamics of HS. The purpose of this work was to use nitrogen vapor sorption method to determine the surface properties of soil fractions of HS. The humic acid (KH) and fulvic acid (KF) fractions were isolated from chernozem on the way of alkaline extraction protocol recommended by the International Humic Substances Society (IHSS). The adsorption process was recorded using a modern analyzer 3-Flex (Surface Characterization Analyzer) with Smart Vap Prep accessory, Micrometrics. BET model was applied to the description of the experimental adsorption-desorption data and surface area, radius, distribution and volume of the pores were estimated. Results showed that the KF surface area was greater than KH. The average radius of the mesopores was almost identical, but their volume was slightly higher for KH. The pores fractions of 1 - 2.5 nm and 2 - 2.5 nm dominated in FA structure while in HA - 1-2,5nm. The obtained information pointed to the high potential of the applied technique in the study of surface properties of humic substances.

Keywords: fulvic acids, humic acids, surface area

\*The studies were carried out within the framework of a research project financed from funds of National Science Centre on the base of decision number DEC-2013/11/D/NZ9/02545.



## **Sprzężona analiza termogravimetryczna jako nowoczesne narzędzie oceniające termiczną stabilność struktury glebowych kwasów huminowych i fulwowych\***

Patrycja Boguta, Małgorzata Łukowska, Kamil Skic,  
Zofia Sokołowska, Marta Cybulak, Agnieszka Tomczyk

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego, Polskiej Akademii Nauk w Lublinie, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

Termiczna stabilność biomasy jak również związków organicznych powstających w wyniku jej transformacji jest ważnym parametrem opisującym możliwość dalszego wykorzystania powyższych substratów w wielu obszarach nauki, przemysłu i rolnictwa. Jedną z metod wykorzystywanych w nowoczesnej biotechnologii do oceny właściwości termicznych związków organicznych pochodzenia roślinnego może być sprzężona analiza termiczna. Celem pracy było wykorzystanie termogravimetrii sprzężonej ze spektrometrią mas (QMS) i spektrometrią w podczerwieni (FTIR) do oceny stabilności termicznej substancji humusowych (SH): kwasu fulwowego (KF) i huminowego (KH) gleby czarnoziemnej. Otrzymane wyniki wykazały istnienie istotnych różnic w strukturze chemicznej KH i KF, co dowodziło zmienności energetycznej poszczególnych wiązań chemicznych. Utrata masy była większa dla KF, co wskazywało na większą ilość struktur labilnych tej frakcji. Pierwsza pochodna DSC uwidoczniała obecność szeregu przemian termicznych. Dane z QMS i FTIR pokazały, iż efekt endotermiczny związany był odparowaniem wody fizycznie zasorbowanej. Efekt egzotermiczny w niższych temperaturach odpowiadał dekompozycji labilnych grup funkcyjnych (głównie grupy karboksylowe). Efekt egzotermiczny w wyższych temperaturach odpowiadał dekompozycji struktur aromatycznych i szkieletu alifatycznego, a także dehydratacji odpornych termicznie grup funkcyjnych.

Słowa klucze: kwasy fulwowe, kwasy huminowe, termogravimetria

\*Praca została zrealizowana w ramach projektu badawczego. Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/11/D/NZ9/02545.

## **Coupled thermogravimetric analysis as a modern tool for assessment thermal stability of soil humic and fulvic acids structure\***

Thermal stability of biomass as well as organic compounds originated from biomass transformation is important parameter describing the possibility of use of the above substrates in many fields of science, industry and agriculture. One of the methods used in modern biotechnology to evaluate the thermal properties of organic compounds of plant origin can be coupled thermal analysis. The aim of the study was to use thermogravimetry coupled with mass spectrometry (QMS) and infrared spectrometry (FTIR) for evaluation thermal stability of humic substances (HS): fulvic acid (FA) and humic acid (HA) from chernozem. The obtained results showed significant differences in the chemical structure of HA and FA, suggesting variability in thermal stability of individual chemical bonds. Weight loss in the entire temperature range was higher for FA, indicating a greater number of labile structures in contrast to more recalcitrant HA structures. First derivative of DSC revealed the presence of a number of thermal transformations. Data from QMS and FTIR showed that the endothermic effect was related to the evaporation of water physically adsorbed. The exothermic effect at lower temperatures corresponded to the decomposition of labile structures, including oxygen function groups (mainly carboxyl groups). The exothermic effect at higher temperatures corresponded to the decomposition of aromatic structures and the aliphatic chains, as well as to dehydration of refractory functional groups.

Keywords: fulvic acids, humic acids, thermogravimetric analysis

\*The studies were carried out within the framework of a research project financed from funds of National Science Centre on the base of decision number DEC-2013/11/D/NZ9/02545.

## Ocena zdolności tworzenia brodawek korzeniowych przez mikrosymbionty moszenek południowych - test roślinny

Patrycja Cieślakowska<sup>1</sup>, Monika Elżbieta Jach<sup>2</sup>, Ewa Sajnaga<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Koło Naukowe Studentów Biotechnologii, Katolicki Uniwersytet Lubelski, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>3</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski, Laboratorium Biokontroli, Produkcji i Aplikacji EPN,  
ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

Moszenki południowe (*Colutea arborescens L.*) to krzewy zaliczane do roślin bobowatych, uprawiane jako rośliny ozdobne. Krzewy te wchodzią w symbiozę z bakteriami z grupy rizobiów, dzięki czemu mogą asymilować azot atmosferyczny. Symbiotyczne wiązanie azotu przez bakterie zachodzi w wyspecjalizowanych strukturach tworzonych na korzeniach roślin nazywanych brodawkami, przy czym w zamian za przyswajalne formy azotu roślina dostarcza bakteriom potrzebne związki pokarmowe i zapewnia ochronę przed stresem środowiskowym. Z brodawek korzeniowych moszenek południowych rosnących na terenie Sandomierza wyizolowano 5 szczepów bakteryjnych. Celem niniejszej pracy była ocena zdolności uzyskanych izolatów do tworzenia brodawek korzeniowych. Aby to zbadać wykorzystano test roślinny.

Sterylna nasiona moszenek południowych umieszczano w doniczkach wypełnionych jałową ziemią. Hodowlę prowadzono przez okres 6 tygodni podlewając jałową wodą. Po tym czasie sadzonki inokulowano bakteriami wprowadzając je bezpośrednio do ziemi. Po upływie kolejnych 6 tygodni zbadano korzenie roślinne pod kątem ilości brodawek i ich aktywności symbiotycznej. Wykazano, iż wszystkie izolaty doprowadziły do wytworzenia aktywnych brodawek na korzeniach moszenek południowych.

Słowa klucze: bakterie brodawkowe, moszenki południowe, brodawki korzeniowe

## Evaluation of the ability to create root nodules by microsymbionts of sienna bladder- plant test

Bladder senna (*Colutea arborescens L.*) is bushes belong to papilionaceous plants, grown as ornamental plants. These bushes establish symbiosis with bacteria from rizobia group, so they can assimilate atmospheric nitrogen. This symbiosis is manifested by the formation of specialized structures on plant root called nodules, in which rizobia fix atmospheric nitrogen to benefit of the plant and in exchange for nutrient supply and protection against environmental stresses. Five bacterial strains were isolated from the root nodules growing in the area of Sandomierz. The aim of this study was to examine the ability of the isolates to form root nodules by using plant test.

Sterile bladder senna seeds were planted on pots filled with sterile soil and incubated for 6 weeks watering sterile water. After this time direct to soil seedlings inoculation with individual bacterial strain was performed. After another 6 weeks, plant roots were examined for nodule number and their symbiotic effectiveness. It has been shown that all isolates can produce effective nodules on roots of bladder senna.

Keywords: symbiotic nitrogen-fixing bacteria, bladder senna, root nodules

## **Wrażliwość *Geotrichum capitatum* na działanie wybranych antrachinonów i flawonoidów**

Angelika Muzyczka<sup>1</sup>, Monika Janeczko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Biologii Molekularnej, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin

*Geotrichum capitatum* jest patogenem oportunistycznym. Grzyb ten rośnie głównie w żywności i glebie. Zwykle izoluje się go z normalnej mikroflory skóry, dróg oddechowych i przewodu pokarmowego, gdzie u zdrowych ludzi nie powoduje infekcji i kolonizacji. Zakażenie *G. capitatum* występuje głównie u pacjentów z nowotworami hematologicznymi i długotrwałą neutropenią, leczonych glikokortykoidami, po głębokim cewnikowaniu żył, chemioterapii i długotrwałym stosowaniem antybiotyków o szerokim spektrum działania. *G. capitatum* może prowadzić do zakażeń ogólnoustrojowych, w tym infekcji krwi, płuc, wątroby, nerek, mózgu i opon mózgowych [1].

Antrachinony i flawonoidy są związkami o znanych właściwościach biologicznych, w tym przeciwgrzybiczych [2]. Stosując metodę mikrorozcieńczeniową oceniliśmy wpływ czterech naturalnych antrachinonów i flawonoidów (aloina, chryzofanol emodyna, kwercetyna) na wzrost *G. capitatum*. Badane związki hamowały wzrost grzyba, a minimalne stężenia hamujące (MIC) oznaczono w zakresie 3,5–150 µg/ml. Najsilniejszą aktywność przeciwgrzybiczą wykazała emodyna z MIC równym 3,5 µg/ml. Ponadto, nie stwierdzono aktywności grzybobójczej badanych substancji w stężeniach sięgających wartości odpowiadających 4xMIC.

### **The susceptibility of *Geotrichum capitatum* to the selected anthraquinones and flavonoids**

*Geotrichum capitatum* is an opportunistic pathogen. This fungus mainly grows in food and soil. It can usually be separated from the normal flora of human skin, respiratory tract and gastrointestinal tract, but does not cause infection and colonization. *G. capitatum* infection occurs mainly in patients with hematologic malignancies, and long-time neutropenia, glucocorticoid treatment, deep venous catheterization, chemotherapy and the use of broad-spectrum antibiotics are all risk factors of fungal infection. *G. capitatum* can lead to systemic infections, including infections of blood, lung, liver, kidney, brain, and meninges [1].

Anthraquinones and flavonoids are compounds with known biological properties, including antifungal agents [2]. Using the microdilution method, we evaluated the effect of four natural anthraquinones and flavonoids (aloin, chrysophanol, emodin, quercetin) on the growth of *G. capitatum*. All of the tested compounds inhibited fungal growth and minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined in the range of 3.5-150 µg/ml. The strongest antifungal activity showed emodin with MIC 3.5 µg/ml. In addition, we didn't find fungicidal activity of tested compounds at concentrations up to 4xMIC.

1. Guang-Xun Gao, Hai-Long Tang, Xuan Zhang, Xiao-Li Xin, Juan Feng, and Xie-Qun Chen, Invasive fungal infection caused by *Geotrichum capitatum* in patients with acute lymphoblastic leukemia: a case study and literature review, *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(8): 14228–14235.
2. Lijian Xu, Wei Meng, Cong Cao, Jian Wang, Wenjun Shan, and Qinggui Wang, Antibacterial and Antifungal Compounds from Marine Fungi, *Mar Drugs*. 2015 Jun; 13(6): 3479–3513.

## **IWR1- nowym substratem kinazy białkowej CK2**

Agata Sumara<sup>1</sup>, Kamil Chudzik<sup>1</sup>, Robert Świder<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Koło Naukowe Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu Jana Pawła II,

<sup>2</sup>Katedra Biologii Molekularnej Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II

Kinaza białkowa CK2 jest enzymem występującym we wszystkich komórkach eukariotycznych. Wykazują zdolność do fosforylacji reszt hydroksylowych seryny oraz treoniny z wykorzystaniem ATP lub GTP. Poprzez fosforylację różnych białek jest zaangażowana w wiele procesów komórkowych między innymi w proliferację, apoptozę oraz cykl komórkowy[1]. Do tej pory poznano ponad 300 substratów tej kinazy[2]. W poniższej pracy zidentyfikowano drożdżowe białko IWR1 jako nowy substrat kinazy białkowej CK2. Białko IWR1 jest białkiem konserwatywnym, odgrywającym kluczową rolę w transporcie polimerazy RNA II z cytozolu do jądra komórkowego. Transport Polimerazy RNA II do jądra komórkowego jest możliwy jedynie w kompleksie z białkiem IWR1, które zwiera motyw NLS – sygnał lokalizacji jądrowej[3]. Co ciekawe, badanie z wykorzystaniem techniki spektrometrii mas wykazała miejsce fosforylacji CK2 w bliskim sąsiedztwie tego regionu. Może mieć to wpływ na transport polimeraz RNA II pomiędzy cytozolem a jądrem komórkowym.

Słowa klucze : kinaza białkowa CK2, IWR1, fosforylacja

### **IWR1 as a new substrate of protein kinase CK2**

Protein kinase CK2 is an enzyme which appears in all eukaryotic cells. CK2 shows the ability to phosphorylate hydroxyl residue of serine and threonine using ATP or GTP as a donor. CK2 through the phosphorylation of many proteins is involved in many cellular process like proliferation, apoptosis and cell cycle[1]. So far, more than 300 substrates of this kinase has been described[2]. In this study we present the IWR1 yeast protein as a new substrate of kinase CK2. IWR1 is a conservative protein, which play main role in a transport of RNA polymerase II from cytosol to nucleus [3]. Transport of RNA polymerase II to nucleus is possible only in a complex with IWR1 protein, which contain NLS motif- nuclear localization signal. Interestingly, the mass spectrometry research shows CK2 phosphorylation site in proximity of IWR1 NLS motif. It may affect on transport of RNA polymerase II from cytosol to nucleus.

Keywords: protein kinase CK2, IWR1, phosphorylation

1. Litchfield DW. Protein kinase CK2: structure, regulation and role in cellular decisions of life and Heath, *Biochem J.* 2003 Jan 1;369(Pt 1):1-15.
2. Meggio F, Pinna LA, One-thousand-and-one substrates of protein kinase CK2, *FASEB J.* 2003 Mar;17(3):349-68.
3. Czeko E i in. Iwr1 directs RNA polymerase II nuclear import, *Mol Cell.* 2011 Apr 22;42(2):261-6.

## **Zastosowanie nanocząsteczek w terapii przeciwnowotworowej**

Dominika Gmur, Kamila Cieccka, Marcin Koleśnik

Koło Naukowe Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu Jana Pawła II,  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Środowisku, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin,  
e-mail: kolesnikmarcin96@gmail.com

Choroby nowotworowe należą do najbardziej niebezpiecznych współczesnego świata. Obecne metody leczenia nowotworów oprócz zwalczania źródła choroby niosą za sobą wiele skutków ubocznych mających destrukcyjny wpływ na cały organizm pacjenta. Aktualnie trwa wiele badań mających na celu uczynienie stosowanych terapii skuteczniejszymi. Jednym z proponowanych w terapii antynowotworowej czynników są niewielkie cząstki materii zwane nanocząsteczkami. Ich specyficzne właściwości pozwalają na zastosowanie podczas diagnozowania chorób jako czynniki kontrastowe bądź jako nośniki leków cytostatycznych podczas walki z guzem bez uszkodzenia zdrowych komórek. Ogromną zaletą jest fakt, że nanocząsteczki te są niewidoczne dla układu immunologicznego oraz zdolne do pokonania wielu przeszkód na swojej drodze jak np. bariera krew-mózg. Wskutek tego istnieje możliwość udoskonalenia standardowych terapii oraz wcześniejsze wykrywanie zmian nowotworowych czy skuteczniejsze monitorowanie efektów leczenia. Dzięki szybkiemu rozwojowi nanotechnologii i wykorzystaniu jej możliwości w onkologii istnieje nadzieja na zastąpienie obecnych metod leczenia, nową, precyzyjną i bezpieczną terapią.

Słowa klucze: terapia przeciwnowotworowa, nanocząsteczki, choroby nowotworowe

### **Application of nanoparticles in antineoplastic therapy**

Cancer is one of the most dangerous diseases in the modern world. Current treatments for cancer next to fighting the source of the disease have many side effects that have a destructive effect on the patient's entire body. Currently, many researches seek to improve therapies using small particles of matter called nanoparticles. Specific properties allow their use as a contrast agent in the diagnosis of the disease or as a carrier of cytostatic drugs while fighting the tumor, without damaging healthy cells. The great advantage is that these molecules are invisible to the immune system and able to overcome many obstacles in their path like the blood-brain barrier. As a result there is a possibility to improve standard therapy and early detection of cancerous lesions or monitoring the effectiveness of treatment. Thanks to the rapid development of nanotechnology and exploiting her capabilities in oncology there is hope to replace the current treatments with new, precise and safe therapy.

Keywords: antineoplastic therapy, nanoparticles, cancer diseases

**Wpływ warunków natlenienia na wzrost i aktywność metaboliczną  
*Photorhabdus temperata***

Paulina Onopiuk<sup>1</sup>, Anna Pytlak<sup>2</sup>, Adam Kubaczyński, Kinga Proc<sup>1</sup>, Marcin Skowronek<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Koło Naukowe Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II,  
Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, e-mail: paulinaonopiuk@gmail.com

<sup>2</sup> Katedra Biochemii i Chemii Środowiska, Wydział Biotechnologii i Nauk o środowisku,  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin

<sup>3</sup> Laboratorium Biokontroli, Produkcji Aplikacji EPN, Interdyscyplinarne Centrum Badań Naukowych,  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Konstantynów 1j, 20-708 Lublin

*Photorhabdus temperata* to Gram-ujemne bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, zasiedlające układ pokarmowy entomopatogennych nicieni z rodziny *Heterorhabditidae*. Wytwarzają czerwony barwnik, nadający specyficzny kolor koloniom w hodowli płytkowej, a także zawiesinie w pożywce płynnej, który z czasem staje się intensywniejszy. Mają zdolność bioluminescencji, jednak jej cel nie jest bliżej określony. Produkują czynniki wirulencji, toksyny silnie owadobójcze i enzymy rozkładające ciało owada do prostych związków, będących źródłem pokarmu dla nich samych oraz nicieni, z którymi tworzą związek mutualistyczny. Wytwarzają również związki antybakteryjne chroniące zarówno je same, jak i symbiotyczne nicienie. Ponadto wykazano, że są bezpieczne dla ludzi, roślin i zwierząt nie będących celem zwalczania oraz dla środowiska. Bakterie te są obiecującymi organizmami ze względu na pośrednią kontrolę rozwoju szkodników pól uprawnych w czasach, gdy duży nacisk kładzie się na ograniczenie stosowania chemicznych środków ochrony roślin. W związku ze środowiskiem w którym żyją, *P. temperata* są narażone na wiele czynników stresowych. W bieżącej pracy zaprezentowano wpływ warunków natlenienia na wzrost i aktywność metaboliczną tych mikroorganizmów.

**Influence of oxygen depletion on growth rate and metabolic activity  
of *Photorhabdus temperata***

*Photorhabdus temperata* is a Gram-negative bacteria, belonging to the family *Enterobacteriaceae* living in the intestinal tract of entomopathogenic nematodes belonging to the family *Heterorhabditidae*. They produce red pigment giving specific color to the colonies in plate culture and also in liquid medium, which becomes more intensive over time. *P. temperata* is bioluminescent, however cause is not understood. They produce many virulence factors, strongly insecticidal toxins and insects decomposing enzymes. Decomposition products are a food source for this bacteria and nematodes, with which they form a mutualistic association. They also produce antibacterial compounds protecting them and symbiotic nematodes opposite other. They are safe for humans, plants, animals not intended to kill and for environment. These bacteria are promising organisms because of the indirect control of the development of crop pests at a time when much emphasis is placed on limiting the use of chemical plant protection products. In connection with habitat in which they live *P. temperata* are exposed to many stressors. In the current study the influence of oxygen depletion on growth rate and metabolic activity.

## **Wpływ wilgotności podłoża torfowego oraz czasowego przesuszenia na wydajność procesu biofiltracji metanu**

Anna Szafranek-Nakonieczna<sup>1</sup>, Kinga Proc<sup>2</sup>, Anna Pytlak<sup>1</sup>,  
Weronika Goraj<sup>1</sup>, Zofia Stępniewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Biochemii i Chemii Środowiska,  
ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin, e-mail: anna.szafranek@kul.pl

<sup>2</sup> Koło Naukowe Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu Jana Pawła II,  
ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin

Torfowiska zajmują niewielki procent powierzchni Ziemi pełnią jednak ważną rolę jako środowisko życia wielu mikroorganizmów, w tym metanotrofów, wykorzystujących metan (CH<sub>4</sub>) jako źródło węgla i energii. Ich aktywność wydajnie obniża stężenie CH<sub>4</sub> przez co redukuje efekt cieplarniany.

Celem pracy było określenie wpływu uwilgotnienia oraz czasowego przesuszenia materiału torfowego (poziom 30-45 cm, bór bagienny otaczający jezioro Moszne, Poleski Park Narodowy) na aktywność zasiedlających go metanotrofów. Świeżo pobrany torf (100% pełnej pojemności wodnej - PPW), przesuszono do wartości: 0, 25, 50, 75% PPW. Wyszuszony torf (0% PPW) został pozostawiony w tym stanie przez okres 7, 30 i 60 dni a następnie ponownie uwilgotniony (25, 50, 75 i 100%PPW). Inkubacje wszystkich wariantów doświadczenia prowadzono w atmosferze powietrza wzbogaconego w CH<sub>4</sub> (1% v/v), w temperaturze 20°C. Na podstawie ubytku CH<sub>4</sub> w czasie (GC-3800, Varian), wyznaczono aktywności metanotroficzne (AMT) wyrażone jako mg CH<sub>4</sub> kg.sm.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

Wyznaczone AMT, sięgały maksymalnie 89 mg CH<sub>4</sub> kg.sm.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. Wykazano, że spadek wilgotności torfu z 100% PPW do 75 i 50% PPW nie spowodował statystycznie istotnej zmiany AMT ( $p > 0,05$ ), natomiast czasowe przesuszenie (do 0% PPW), nawet krótkotrwałe, powoduje znaczącą redukcję AMT nawet o 90% w porównaniu z aktywnością torfu nie poddanego wysuszeniu.

Słowa klucze: metanotrofy, biofiltracja metanu, torf

## **Influence of peat material moisture and temporary drying on efficiency of methane biofiltration**

Peatlands cover small part of the Earth but play very important role as a habitat for microorganisms, including methanotrophs, which are able to use methane (CH<sub>4</sub>) as a source of carbon and energy. Their activity decrease methane concentration in atmosphere by what reduce the greenhouse effect.

The aim of the work was to determine the impact of moisture and temporary drying of the peat material (level 30-45 cm, swamp forest surrounding Moszne Lake, Poleski National Park) on activity of the methanotrophs. Freshly taken peat (100% full water capacity - FWS) was dried to: 0, 25, 50, 75% FWS. Completely dried peat was left in that state for 7, 30 and 60 days, afterwards it was remoistured (25, 50, 75 and 100%FWS). Each experimental variant was incubated under air enriched with CH<sub>4</sub> (1% v/v), in 20°C. Based on the decrease of CH<sub>4</sub> in time (GC-3800, Varian) methanotrophic activities (MTA) were calculated and expressed as mg CH<sub>4</sub> kg.dw.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

Maximum MTA determined was 89 mg CH<sub>4</sub> kg.dw.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>. It was shown that the decrease in moisture of a peat from 100 to 75 and 50% FWS did not result in a statistically significant change in MTA ( $p > 0.05$ ), while temporary drying (to 0% FWS), even of short duration, resulted in significant reduction of MTA, up to 90% compared to untreated peat.

Keywords: methanotrophs, methane biofiltration, peat

**ERRATA**

do Książki abstraktów I OGÓLNOPOLSKIEJ KONFERENCJI NAUKOWEJ  
„BIOTECHNOLOGIA - ENERGIA JUTRA” 19 – 20 października 2017 r.  
ISBN 978-83-948570-0-4

str. 72 – wycofanie abstraktu E. Kowalskiej pt.: „Alternatywne metody oceny bezpieczeństwa surowców kosmetycznych test mikrojądrowy.”



### Charakterystyka biopreparatu *metaferm* i ocena wpływu jego stosowania na produkcję biogazu

Karolina Oszust<sup>1</sup>, Anna Pawlik<sup>2</sup>, Grzegorz Janusz<sup>2</sup>, Krzysztof Ziemiński<sup>3</sup>, Małgorzata Cyran<sup>4</sup>,  
Anna Siczek<sup>1</sup>, Agata Gryta<sup>1</sup>, Nina Bilińska-Wielgus<sup>1</sup>, Magdalena Frąć<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin;

<sup>2</sup> Zakład Biochemii, UMCS, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin;

<sup>3</sup> Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź;

<sup>4</sup> Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin PIB, Radzików 05-870 Błonie

Przeprowadzono charakterystykę właściwości biopreparatu *metaferm*, otrzymanego z hodowli *Trichoderma atroviride* G79/11. Zanotowano wysoką produkcję enzymów celulolitycznych w pożywce zawierającej mąkę sojową, celulozę i laktozę. Dla płynnej formy biopreparatu *metaferm* wykazano 22U cm<sup>-3</sup> ogólnej aktywności celulolitycznej przy pH 5,1 i temperaturze 50°C, dla liofilizowanej (1 mg cm<sup>-3</sup>) 1,09U cm<sup>-3</sup>. Odnotowano obecność enzymów: ksylanaz, β-glukozydazy i karboksymetylocelulazy, a także enzymów towarzyszących: pektynoesteraz, poligalaktouronaz, amylazy, laktazy i proteazy. Różnorodność aktywności enzymatycznych, wchodzących w skład biopreparatu *metaferm*, stanowi o jego konkurencyjności w stosunku do komercyjnych biopreparatów enzymatycznych.

Zaproponowano sposób prowadzenia kondycjonowania odpadów organicznych z zastosowaniem biopreparatu w kierunku zwiększenia produkcji biogazu. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano potencjalne zastosowanie aplikacyjne biopreparatu *metaferm*. Po użyciu biopreparatu (liofilizat w dawce 0,5 mg g<sup>-1</sup> s.m. odpadów) do enzymatycznego kondycjonowania odpadów odnotowano 30% wzrost produkcji biogazu z mieszanki odpadów organicznych (odpady z przetwórstwa owoców, osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich, kiszonka kukurydziana, wywar zbożowy).

Słowa klucze: biopreparat enzymatyczny, aktywność celulolityczna, fermentacja metanowa, *Trichoderma atroviride*

### **Characterization and influence of the enzymatic *metaferm* biopreparation for biogas yield enhancement**

The research undertaken in this article included characterization of an enzymatic biopreparation of *Trichoderma atroviride* G79/11 origin. The fungus showed relatively high cellulase production in soybean flour-cellulose-lactose medium. Subsequently, based on its post-culture liquid, the *metaferm* biopreparation was developed and characterized. The liquid form of *metaferm* reached 22 U cm<sup>-3</sup> of cellulolytic activity and its lyophilisate exhibited 1.09 U cm<sup>-3</sup> at pH 5.1 and 50°C. *Metaferm* was characterized by the following activities: xylanase, β-glucosidase, carboxymethyl cellulase, poligalactouronase, pectinesterase, amylase, lactase, and protease.

A method for an efficient conditioning process of organic waste (fruit processing waste, dairy sewage sludge, corn silage, and grain broth) for biogas yield enhancement using *metaferm* was proposed. *Metaferm* increased the efficacy of biogas production by 30% when the *metaferm* lyophilizate (0.5 mg g<sup>-1</sup> d.m.) was applied prior to fermentation. A method for carrying out the enzymatic conditioning process of organic waste using *metaferm* as a pretreatment was proposed. This was a part of optimization of the methane fermentation process to increase the biogas yield. Consequently, after application of the biopreparation, the efficiency of anaerobic digestion of organic waste was improved.

Keywords: enzyme biopreparation, cellulolytic activity, methane fermentation, *Trichoderma atroviride*

Scientific work was funded from the budget for science by National Centre of Research and Development in Poland. LIDER 048/L-2/10. Programme 2011-2014.

### **Egzopolimery a aktywność ryzosferowych szczepów *Trichoderma* i *Fusarium***

Jolanta Jaroszuk-Ściśeł, Artur Nowak, Renata Tyśkiewicz,  
Ewa Ozimek, Małgorzata Majewska, Anna Słomka

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii,  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Egzopolimery (EPS) okazały się substancjami powszechnie syntetyzowanymi przez ryzosferowe grzyby Ascomycota należące do dominujących i wzajemnie oddziałujących na siebie w ryzosferze rodzajów *Trichoderma* i *Fusarium*. Obecność EPS stwierdzono dla 85% (u 17 z 20) szczepów *Trichoderma* oraz 81% (u 13 z 16) szczepów *Fusarium*. EPS *Trichoderma* zawierały głównie gluko-manno-galaktany a EPS *Fusarium* w przewadze gluko-mannany. Stężenie EPS w hodowlach szczepów *Trichoderma* i *Fusarium* wahało się w szerokich granicach od 0,01 do 0,1%. Średnie wartości stężeń EPS dla rodzaju wskazywały na przewagę rodzaju *Trichoderma* (0,06%) nad *Fusarium* (0,05%). Średnie wartości dla gatunków *Trichoderma* wahały się od 0,02% dla *T. koningiopsis* do 0,084% dla *T. virens* a dla gatunków *Fusarium*, od 0,013% do 0,069% dla *F. oxysporum* i *F. culmorum*. Stężenie EPS poszczególnych szczepów *Trichoderma* i *Fusarium* było skorelowane dodatnio z wartością pH płynów pochodzących a ujemnie z masą grzybni tych szczepów. Stężenie EPS w hodowlach szczepów *Trichoderma* było skorelowane istotnie dodatnio, a w hodowlach szczepów *Fusarium* istotnie ujemnie, ze stężeniem związków kompleksujących Fe, w tym specyficznych sideroforów hydroksamowych oraz stężeniem fitohormonu IAA. W hodowlach szczepów *Trichoderma* stężenie EPS było dodatnio skorelowane z efektem biotycznym i aktywnością mykopasożytniczą w stosunku do fitopatogenicznych szczepów *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. oxysporum* i *F. graminearum*).

Słowa klucze: EPS, związki kompleksujące Fe, siderofory, fitohormony, efekt biotyczny, mykopasożytnictwo, *Fusarium*, *Trichoderma*

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę – projekt nr BS-P-11-010-17-2-07.

### **Exopolymers and activity of rhizospheric *Trichoderma* and *Fusarium* strains**

Exopolymers (EPS) have proved to be commonly synthesized substances by rhizospheric Ascomycota fungi belonging to the dominant of *Trichoderma* and *Fusarium* genera mutually affecting each other in the rhizosphere. The presence of EPS was found for 85% (17 of 20) of *Trichoderma* strains and 81% (13 of 16) of *Fusarium* strains. The EPS of *Trichoderma* contained mainly gluco-manno-galactans and gluco-mannans were predominant in the EPS of *Fusarium*. The concentration of EPS in *Trichoderma* and *Fusarium* strains fluctuated in a wide range of 0.01 to 0.1%. The mean concentrations of EPS in the genus pointed to the advantage of *Trichoderma* (0.06%) over *Fusarium* (0.05%). The average values for the *Trichoderma* species ranged from 0.02% for *T. koningiopsis* to 0.084% for *T. virens*, and from 0.013% to 0.069% for *F. oxysporum* and *F. culmorum*, respectively, in the case of the *Fusarium* species. The concentration of EPS of the strains *Trichoderma* and *Fusarium* was correlated positively with the value of the liquid culture pH and negatively with the fungal mass of these strains. The concentration of EPS in the *Trichoderma* strains correlated significantly positively and significantly negatively in the *Fusarium* strains with complexing compounds, including specific hydroxamic siderophores, and with the IAA phytohormone concentration. In the case of *Trichoderma* strains, the concentration of EPS was positively correlated with the biotic effect and mycoparasitic activity against the phytopathogenic *Fusarium* strains (*F. culmorum*, *F. oxysporum* and *F. graminearum*).

Keywords: EPS, Fe complexing compounds, siderophores, biotic effect, mycoparasitism, *Fusarium*, *Trichoderma*

This study was financially supported by the research program BS-P-11-010-17-2-07 (2017).

### **Aktywność metaboliczna psychrotroficznych szczepów *Mortierella* i *Bacillus* - potencjalnych biostymulatorów roślin**

Ewa Ozimek, Jolanta Jaroszuk-Ściśeł, Artur Nowak, Małgorzata Majewska, Anna Słomka

Zakład Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Biologii i Biotechnologii,  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Mikroorganizmy selekcjonowane jako potencjalne składniki preparatów stymulujących wzrost i rozwój roślin uprawnych powinny uruchamiać kluczowe pierwiastki, takie jak fosfor z jego form niedostępnych dla roślin. Wiele mikroorganizmów zaliczanych do grupy PSM (ang. *Phosphate Solubilizing Microorganisms*) zdolnych jest do rozpuszczania związków fosforu, głównie przez wydzielane do otoczenia kwasy. Wynikiem ich aktywności jest nadmiar uruchomionych przez nie biodostępnych jonów  $H_2PO_4^-$  i  $HPO_4^{2-}$ . W okresie wiosennym i jesiennym w klimacie umiarkowanym mikrobiologiczne uruchamianie glebowego fosforu może zachodzić głównie z udziałem psychrotrofów. Badano zdolność psychrotroficznych szczepów grzybowych *Mortierella alpina* MA 2 i MA 70 oraz bakteryjnych szczepów *Bacillus* sp. BSP E i BSP D do rozpuszczania nieorganicznych fosforanów w szerokim zakresie temperatur: 9°C, 15°C, 20°C i 28°C. Hodowle prowadzono na podłożu zmodyfikowanym stałym Pikovskaya z dodatkiem nierozpuszczalnych substratów: fosforan wapnia (PVK), hydroksyapatyt (PVKHA) lub fosforan cynku (PVKZnP) zastosowanych jako jedyne źródło fosforu. Wszystkie badane szczepy rosły i tworzyły wyraźne strefy rozpuszczania testowanych związków fosforu we wszystkich temperaturach inkubacji. Optymalną temperaturą wzrostu i rozpuszczania fosforanów była temperatura 20°C, z wyjątkiem szczepu MA 70 w hodowlach na PVK i PVKZnP.

Słowa kluczowe: fosforany nieorganiczne, psychrotrofy, *Mortierella*, *Bacillus*

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę – projekt nr BS-P-11-010-17-2-07.

### **Metabolic activity of psychrotrophic *Mortierella* and *Bacillus* strains - potential plants biostimulators**

Microorganisms selected as a potential components of preparations that stimulate the growth and development of crops should be the key elements replaced to plants from its unavailable form. Many microorganisms belonging to the PSM (ang. *Phosphate Solubilizing Microorganisms*) are capable to dissolve phosphorus compounds, mainly by acids secreted into the environment. The result of their activity is the excess of bioavailable ions:  $H_2PO_4^-$  and  $HPO_4^{2-}$ . Mainly activity of psychrotrophs is responsible for microbiological solubilization of inorganic soil phosphate in Spring and Autumn in temperate climates. The aim of the investigation was to study the ability of psychrotrophic fungal *Mortierella alpina* MA 2 and MA 70 strains and bacterial *Bacillus* sp. BSP E and BSP D strains to dissolve inorganic phosphates in a wide range of temperature: 9 C, 15° C, 20°C and 28°C. The strains were cultured on modified Pikovskaya agar medium with insoluble substrates: calcium phosphate (PVK), hydroxyapatite (PVKHA) or zinc phosphate (PVKZnP) used as the only source of phosphorus. All tested strains grew and formed a clear zone of dissolving each phosphorus compounds in a wide range of temperatures. The optimum temperature for the growth and the dissolution of phosphate was 20 C, with the exception of the MA 70 strain in the PVK and PVKZnP culture medium.

Keywords: inorganic phosphate, psychrotrophs, *Mortierella*, *Bacillus*

This study was financially supported by the research program BS-P-11-010-17-2-07 (2017).



Genomed S.A. jest innowacyjną firmą, założoną przez grupę naukowców z kilkunastoletnim doświadczeniem i znaczącymi osiągnięciami w dziedzinie genomiki. Firma oferuje wszelkiego rodzaju analizy sekwencji DNA, w tym analizę polimorfizmu ("Gene Scan"), sekwencjonowanie materiału genetycznego w technologii Sangera i NGS (ang. Next-Generation Sequencing), syntezę oligonuklotydów standardowych (wysalanych i oczyszczanych HPLC), oligonukleotdów modyfikowanych oraz znakowanych podwójnie sond.

Technologia Sekwencjonowania NGS (ang. Next-Generation Sequencing) stała się uniwersalnym i niezastąpionym narzędziem biologii molekularnej, dając niemal nieograniczony wgląd w informację genetyczną, w postaci genomów, transkryptomów czy epigenomów dowolnych organizmów. Dzięki dopasowaniu do potrzeb projektu, NGS znajduje zastosowanie w wielu dziedzinach naukowych, od diagnostyki medycznej począwszy na biologii ewolucyjnej i rolnictwie kończąc.

Przykładowe zastosowania sekwencjonowania NGS:

- sekwencjonowanie *de novo* całych genomów prokariotycznych i eukariotycznych,
- sekwencjonowanie eksomów,
- resekwencjonowanie wybranych fragmentów genomów i amplikonów,
- sekwencjonowanie transkryptomów,
- sekwencjonowanie i analiza metagenomów, na podstawie fragmentu 16S RNA (skład bakteryjny) oraz sekwencji ITS (populacja grzybów) z puli DNA środowiskowego.

Genomed S.A. is an innovative company, with headquarters in Warsaw, that offers molecular diagnostics based on DNA sequencing, with a special focus on NGS-based methods. The main goal of Genomed is to further improve prophylactic and clinical whole genome analysis with an exhaustive diagnostic and medical report to provide a basis for prevention and personalised treatment.

Our offer also includes the whole range of DNA sequencing services, oligonucleotide and probe synthesis as well as bioinformatic analysis of data.

### Indeks nazwisk autorów

Abramczyk B. ....	50	Górski A. ....	36, 38, 41, 48
Banach A. ....	38, 43, 44	Grąż M. ....	26
Baryga A. ....	58	Gregorek M. ....	41
Berus W. ....	42	Gryt E. ....	31
Bieganowski A. ....	57	Gryta A. ....	73
Bielecka E. ....	20	Grządziel J. ....	54, 62, 63
Bilińska-Wielgus N. ....	73	Gunia-Krzyżak A. ....	19
Błaszczak M. ....	46, 47	Jach M.E. ....	59, 66
Boguta P. ....	64, 65	Janeczko M. ....	34, 67
Bownik A. ....	18	Janusz G. ....	73
Brzezińska M. ....	57	Jaromin-Gleń K. ....	57
Bucki A. ....	19	Jarozuk-Ścisieł J. ....	75, 76
Bulak P. ....	57	Jarosz-Wilkołazka A. ....	26
Chmielewski M. ....	20	Jastrzębska N. ....	45
Chojnacki T. ....	20	Jaworski A. ....	13
Chruścińska M. ....	41	Kalwat M. ....	60
Chudzik K. ....	68	Kasprzycka A. ....	31
Cieczka K. ....	69	Kasprzycki D. ....	24
Cieślakowska P. ....	66	Kazimierczak W. ....	61
Cybulak M. ....	64, 65	Kochanowicz E. ....	34
Cyran M. ....	73	Koczurkiewicz P. ....	19
Czyż E.A. ....	56	Koleśnik M. ....	69
Czyż J. ....	20	Kordowska-Wiater M. ....	60
Daniluk J. ....	44	Kowalska E. ....	72
Derdziuk A. ....	10	Kozieł M. ....	52
Detman A. ....	27	Kreft A. ....	61
Frąc M. ....	49, 51, 73	Kubaczyński A. ....	36, 37, 38, 39, 40, 41, 70
Furtak K. ....	53, 56	Kubiński K. ....	34
Gajda A.M. ....	53, 56	Kuźniar A. ....	39, 40, 42, 45
Gałązka A. ....	50, 51, 54, 62, 63	Lalak-Kańczugowska J. ....	31
Gałązka R. ....	63	Latasiewicz J. ....	20
Gawarecka K. ....	20	Łopacka N. ....	42, 48
Gawryjotek K. ....	50	Łukowska M. ....	64, 65
Ginalska G. ....	35	Łyszcz M. ....	50, 51
Głąb E. ....	48	Madeja Z. ....	20
Gmur D. ....	69	Majewska M. ....	75, 76
Goraj W. ....	36, 37, 39, 41, 43, 45, 49, 71	Martyna A. ....	34
Goryluk-Salmonowicz A. ....	46	Martyniuk S. ....	52
Górski A. ....	37	Masłyk M. ....	34

Masnyk M. ....	20	Skic K. ....	64, 65
Miłoś M. ....	55	Skowronek M. ....	61, 70
Muzyczka A. ....	67	Skórczyńska-Polit E. ....	55
Nowak A. ....	75, 76	Słomka A. ....	75, 76
Ochątek A. ....	20	Smreczak B. ....	63
Onopiuk P. ....	70	Sokołowska Z. ....	64, 65
Oszust K. ....	49, 73	Spaczyński M. ....	55
Ozimek E. ....	75, 76	Sroka J. ....	20
Paradowska K. ....	35	Stęplewska U. ....	29
Pawlik A. ....	73	Stępniewska Z. 25, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 71	
Pękała E. ....	19	Sumara A. ....	68
Piska K. ....	19	Swieżewska E. ....	20
Piskorska A. ....	43	Szafranek-Nakonieczna A. 36, 38, 41, 47, 48, 49, 71	
Piwowarczyk K. ....	20	Szafranek–Nakonieczna A. ....	37
Pleszczyńska M. ....	16	Szafranek–Nakonieczna A. ....	39
Płusa A. ....	43	Szyska R. ....	11
Polak B. ....	35	Świder R. ....	68
Polak E. ....	29	Tomczyk A. ....	64, 65
Polak J. ....	26	Tyśkiewicz R. ....	75
Polakowski C. ....	57	Ukalska-Jaruga A. ....	63
Połeć B. ....	58	Waksmundzka-Hajnos M. ....	14
Proc K. ....	48, 70, 71	Walkiewicz A. ....	57
Przekora A. ....	17	Wliziło K. ....	26
Pytka M. ....	60	Wolińska A. ....	38, 44, 45, 46, 47
Pytlak A. 36, 37, 38, 39, 40, 41, 48, 49, 70, 71		Wójcik-Pszczółka K. ....	19
Rak M. ....	20	Wróbel-Jędrzejewska M. ....	29
Rekosz-Burlaga H. ....	46	Ziaja M. ....	59
Sajnaga E. ....	59, 61, 66	Zielenkiewicz U. ....	47
Siczek A. ....	73	Ziemiński K. ....	73
Sikora A. ....	27, 30		